# Synthese von Virginiamycin $S_1$

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

vorgelegt
beim Fachbereich Chemie der
Johann Wolfgang Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

von
**Manfred Kühn**
aus Frankfurt am Main

Frankfurt am Main
~~1983~~
1984

UNIV.
LIBRARY
IOWA

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523716_0047

# SYNTHESE VON VIRGINIAMYCIN $S_1$

INAUGURALDISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DES DOKTORGRADES

DER NATURWISSENSCHAFTEN

VORGELEGT

BEIM FACHBEREICH CHEMIE DER

JOHANN WOLFGANG GOETHE-UNIVERSITÄT

ZU FRANKFURT AM MAIN

VON

MANFRED KÜHN

AUS FRANKFURT AM MAIN

FRANKFURT AM MAIN

1983

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Chemie
der J. W. Goethe-Universität in Frankfurt am Main

| | |
|---|---|
| Dekan: | Prof. Dr. E. Fries |
| Erster Berichterstatter: | Prof. Dr. H. Kessler |
| Zweiter Berichterstatter: | Prof. Dr. G. Quinkert |
| Tag der Promotion: | 10. Februar 1984 |

Für Christine

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Organische Chemie der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main unter Anleitung von Herrn Professor Dr. H. Kessler in der Zeit von September 1980 bis August 1983 durchgeführt.

Mein Dank gilt:

- Herrn Prof. Dr. H. Kessler für die Überlassung des interessanten Themas sowie für die Betreuung und Hilfe, die er mir während der Anfertigung dieser Arbeit zukommen ließ.
- sämtlichen wissenschaftlichen und nichtwissenschaftlichen Mitarbeitern des Arbeitskreises, insbesondere Frau B. Beck für die Messung der unzähligen Drehwerte.
- Herrn Dr. E. Grell, Max Planck-Institut für Biophysik, für die Überlassung einer Probe von natürlichem Virginiamycin $S_1$.
- Herrn Prof. Dr. R. Geiger für die wertvollen Anregungen und Hinweise.
- der Hoechst AG für die Überlassung von n-Propylphosphonsäureanhydrid.
- der DEGUSSA AG für größere Mengen an Rh/Al-Katalysator (5 %ig).
- Herrn G. Appelfeller und Herrn H. Großler und seiner Abteilung für die Bewältigung technischer Probleme.
- Frau Zimmermann für das Anfertigen eines Teils der Abbildungen.

Verzeichnis der Abkürzungen

| | |
|---|---|
| abs. | absolut |
| Abu | α-Aminobuttersäure |
| a-4Hyp | allo-4-Hydroxyprolin |
| Ala | Alanin |
| AS | Aminosäure |
| Asp | Asparaginsäure |
| b | breit |
| ber. | berechnet |
| Boc | tertiär-Butyloxycarbonyl |
| BOP-Cl | N,N-Bis-2-oxo-3-oxazolidinylphosphorsäure-chloriddiamid |
| $Bu^t$ | tertiär-Butyl |
| Bzl | Benzyl |
| $Bzl(NO_2)$ | p-Nitrobenzyl |
| CDI | N,N'-Carbonyldiimidazol |
| d | Duplett |
| DCC | Dicyclohexylcarbodiimid |
| DCHA | Dicyclohexylamin |
| Ddz | α,α'-Dimethyl-3,5-dimethoxybenzyloxycarbonyl |
| DMAP | 4-Dimethylaminopyridin |
| DMF | Dimethylformamid |
| DMSO | Dimethylsulfoxid |
| DSC | Dünnschichtchromatographie |
| EDCI | N-Ethyl-N'-(dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid |
| $Et_2O$ | Diethylether |
| EtOH | Ethanol |

| | |
|---|---|
| Fmoc | 9-Fluorenylmethyloxycarbonyl |
| Fmoc-Cl | Chlorameisensäure-(9-Fluorenylmethyl)-ester |
| gef. | gefunden |
| ges. | gesättigt |
| HPLC | Hochdruckflüssigkeitschromatographie |
| 4-Kps | 4-Ketopipecolinsäure |
| Leu | Leucin |
| max. | maximal |
| Me | Methyl |
| MeLeu(3Me) | threo-N,ß-Dimethylleucin |
| MeOH | Methanol |
| MePhe | N-Methylphenylalanin |
| MePhe(p-$NMe_2$) | N-Methyl-p-dimethylaminophenylalanin |
| MePhg | N-Methylphenylglycin |
| MPLC | Mitteldruckflüssigkeitschromatographie |
| NMM | N-Methylmorpholin |
| Np | p-Nitrophenyl |
| NSu | Succinimid |
| PE | Petrolether |
| Phg | Phenylglycin |
| Pic(3OH) | 3-Hydroxypicolinsäure |
| Pip | Pipecolinsäure |
| Pip(cis-4OH) | cis-4-Hydroxypipecolinsäure |
| PPA | N-Propylphosphonsäureanhydrid |
| Pro | Prolin |
| RT | Raumtemperatur |
| s | Singulett |
| Ser | Serin |
| Sar | Sarcosin |

| | |
|---|---|
| t | Triplett |
| t. | tertiär |
| TDO-Carbonat | 4,6-Diphenyl-thieno[3,4-d][1,3]dioxol-2-on-5,5-dioxid |
| TFA | Trifluoressigsäure |
| Thr | Threonin |
| TsOH | p-Toluolsulfonsäure |
| Z | Benzyloxycarbonyl |
| Z-Cl | Chlorameisensäurebenzylester |
| Z(OMe) | p-Methoxybenzyloxycarbonyl |

Inhaltsverzeichnis


| | | |
|---|---|---|
| | Verzeichnis der Abkürzungen | |
| 1. | Einleitung | |
| 1.1. | Die Streptogramin-Antibiotika | 1 |
| 1.2. | Die biologische Wirkung der Streptogramine | 3 |
| 1.3. | Bisherige Synthesen von analogen Streptograminen | 4 |
| 1.3.1. | Synthese des Etamycins | 4 |
| 1.3.2. | Synthese des $(4\text{-Hydroxyprolin})^{6}$-Pristinamycin $I_A$ | 6 |
| 1.3.3. | Synthese des Patricin A | 8 |
| 1.4. | Ziel der Arbeit | 11 |
| 2. | Überlegungen zur Synthese von Virginiamycin $S_1$ | 12 |
| 3. | Erstes Synthesekonzept zur Synthese von Virginiamycin $S_1$ | 14 |
| 3.1. | Herstellung der Bausteine zur Peptidsynthese | 16 |
| 3.2. | Optimierungsversuche zur Darstellung der Depsipeptidsequenz | 19 |
| 3.3. | Synthese des Tripeptidbausteins Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-$OBu^t$ | |
| 3.3.1. | 1. Synthesekonzept | 24 |
| 3.3.2. | 2. Synthesekonzept | 29 |
| 3.3.3. | 3. Synthesekonzept | 32 |
| 3.4. | Abschließende Synthese | 34 |
| 4. | Zweites Synthesekonzept zur Synthese von Virginiamycin $S_1$ | 39 |

5. Drittes Synthesekonzept zur Synthese von Virginiamycin $S_1$ 42

6. Zusammenfassung und Ausblick 46

7. Experimenteller Teil

7.1. Allgemeines 49

7.2. Allgemeine Arbeitsvorschriften 51

7.3. Liste der synthetisierten Verbindungen 54

7.4. Synthesevorschriften 56

8. Literaturverzeichnis 105

# 1. Einleitung

## 1.1. Die Streptogramin-Antibiotika

Die Streptogramine sind eine große Gruppe von Antibiotika, deren Vertreter von verschiedenen Strahlenpilzen (Streptomyceten) produziert werden. Die Gruppe erhielt ihren Namen von dem Antibiotikum Streptogramin, dessen erstmalige Entdeckung von Charney et al. [1] 1953, 1955 zur Isolierung von Virginiamycin durch De Somer und van Dijek führte [2]. Ausführliche Übersichtsartikel über Isolierung und Wirkungsweise der Streptogramine sind von Vazquez [3,4], Tanaka [5] und Cocito [6] erschienen.

Bei den Streptograminen handelt es sich um komplizierte Substanzgemische verschiedener Antibiotika, die aufgrund ihrer unterschiedlichen Struktur in zwei Gruppen A und B eingeteilt werden.

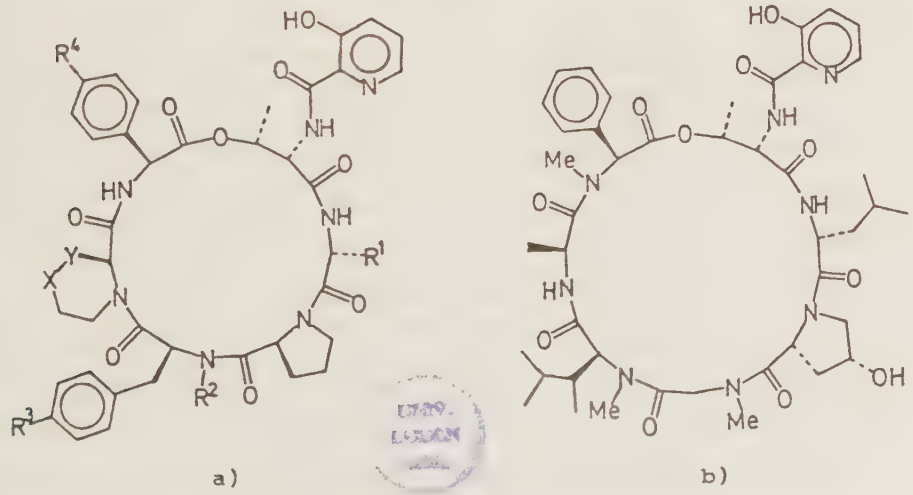



Abbildung 1a: Allgemeine Strukturformel der Streptogramin-B-Antibiotika (siehe auch Tabelle 1)

1b: Viridogrisein (bzw. Etamycin)

Bei den Substanzen der Gruppe A handelt es sich um mehrfach ungesättigte macrocyclische Lactone, während es sich bei den Antibiotika der Gruppe B um Peptidlactone handelt, die zur Substanzklasse der Depsipeptide gehören [7]. Der Lactonring besteht in der Regel aus sechs, bei Viridogrisein aus sieben Aminosäureresten. Allen Streptograminen der Gruppe B gemeinsam ist der exocyclische 3-Hydroxypicolinsäurerest. Er ist über die Aminogruppe des Threonins mit dem Ring verknüpft, deren Hydroxylgruppe mit der benachbarten Aminosäure, meist Phenylglycin, die Esterbindung bildet und damit den Lactonring schließt.

Die einzelnen Vertreter der verschiedenen B-Komponenten unterscheiden sich voneinander meist nur durch kleine Änderungen in den Seitenketten. In Tabelle 1 (zu Abbildung 1a) sind die bisher

| Antibiotikum | $R^1$ | $R^2$ | $R^3$ | X | Y | $R^4$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Ostreogrycin B<br>Mikamycin $B_I$<br>Vernamycin $B_\alpha$<br>Pristinamycin $I_A$<br>Streptogramin B | $C_2H_5$ | $CH_3$ | $N(CH_3)_2$ | CO | $CH_2$ | H |
| Ostreogrycin $B_1$<br>Pristinamycin $I_C$<br>Vernamycin $B_\nu$ | $CH_3$ | $CH_3$ | $N(CH_3)_2$ | CO | $CH_2$ | H |
| Ostreogrycin $B_2$<br>Vernamycin $B_\beta$<br>Pristinamycin $I_B$ | $C_2H_5$ | $CH_3$ | $NHCH_3$ | CO | $CH_2$ | H |
| Ostreogrycin $B_3$ | $C_2H_5$ | $CH_3$ | $N(CH_3)_2$ | CO | CHOH | H |
| Vernamycin C<br>Doricin | $C_2H_5$ | $CH_3$ | $N(CH_3)_2$ | | Asp | H |
| Vernamycin $B_\delta$ | $CH_3$ | $CH_3$ | $NHCH_3$ | CO | $CH_2$ | H |
| Plauracin $B_I$ | $CH(CH_3)_2$ | $CH_3$ | H | CO | $CH_2$ | $OCH_3$ |
| Virginiamycin $S_1$ | $C_2H_5$ | $CH_3$ | H | CO | $CH_2$ | H |
| Virginiamycin $S_2$ | $C_2H_5$ | H | H | CHOH | $CH_2$ | H |
| Virginiamycin $S_3$ | $C_2H_5$ | $CH_3$ | H | CO | CHOH | H |
| Virginiamycin $S_4$ | $CH_3$ | $CH_3$ | H | CO | $CH_2$ | H |
| Virginiamycin $S_5$ | $C_2H_5$ | $CH_3$ | H | CHOH | $CH_2$ | Ala |

Tabelle 1: Streptogramin-B-Antibiotika (siehe dazu Abbildung 1a)

bekannten Verbindungen aufgeführt, wobei einige Substanzen in Unkenntnis ihrer chemischen Struktur mehrere Namen erhielten.

## 1.2. Die biologische Wirksamkeit der Streptogramine

Die Streptogramine werden heute, neben einem beschränkten Bereich in der Humanmedizin, hauptsächlich als Futtermittelzusätze in der Massentierhaltung, speziell bei der Aufzucht von Jungtieren, eingesetzt [6].

Die Antibiotika der Gruppe A wirken dabei hauptsächlich gegen grampositive Kokken, während die Depsipeptide der B-Komponenten besser gegen Bacilli wirken.

Die in der Natur als Substanzgemische der Gruppen A und B vorkommenden Streptogramine zeigen synergistische Wirkung [8,9], daß heißt die Wirkung des Substanzgemisches ist höher als die Summe ihrer Einzelwirkungen.

Bei beiden Substanzgruppen werden als Angriffspunkte die Ribosomen angenommen, so daß es zu einer Hemmung der Proteinbiosynthese des Mikroorganismus kommt [8,10,11]. Zusätzlich scheinen die Streptogramine Einfluß auf die Kationenkonzentration zu nehmen und dadurch ebenfalls eine Hemmung der Proteinbiosynthese hervorzurufen [10,12,13]. Interessant erscheint in diesem Bereich vor allen Dingen die Komplexierungseigenschaften des Antibiotikums Virginiamycin $S_1$, dessen hohe Protonenspezifität im Vergleich zur Alkali- und Erdalkalispezifität auffällt [14,15]. Als Ort der Komplexierung wird dabei vor allem die exocyclische 3-Hydroxypicolinsäure angesehen [15].

### 1.3. Bisherige Synthesen von analogen Streptograminen

Im Bereich der Streptogramine B wurde bisher nur eine geringe Anzahl von Synthesen publiziert, wobei sich der größte Teil dieser Synthesen durch Vereinfachung der Peptidsequenz auf die Darstellung von Antibiotika-Analogen bezieht.

#### 1.3.1. Synthese des Etamycins

Die bisher einzige, publizierte Synthese eines natürlichen Peptides aus der Reihe der Streptogramine ist die Synthese des Etamycins (bzw. Viridogrisein, Abbildung 1b) von Sheehan und Ledis [16].
Der Syntheseplan sah für die Cyclisierung den Ringschluß über eine Amidbindung vor. In einer ersten Synthese wurde versucht zwischen D-a4Hyp und Sar zu cyclisieren, da hier die Gefahr einer möglichen Racemisierung geringer ist als zwischen D-Leu und D-a4Hyp jedoch ergab sich bei allen Cyclisierungsversuchen nur das innere Anhydrid des Hydroxyprolins als Produkt.
Um Schwierigkeiten bei den Schutzgruppen zu umgehen wurde das lineare Heptapeptid aus zwei größeren Fragmenten $\underline{\underline{2}}$ und $\underline{\underline{3}}$ durch Veresterung hergestellt.
Das Threonin enthaltende Segment $\underline{\underline{2}}$ wurde durch Kupplung von Z-Thr-OH mit H-D-Leu-OBu$^t$ (78 %), Abspaltung der Z-Gruppe durch katalytische Hydrierung und Ankondensation von Pic(3OBzl)-OH aufgebaut.
Die Synthese des zweiten Segments $\underline{\underline{3}}$ durch linearen Aufbau des Peptids schlug bei der 2. Peptidkupplung fehl. Der Syntheseplan wurde daher umkonzipiert. Peptidkupplung von Z-MeLeu(3Me)-OH mit H-Ala-OMe führten zu 45 % Dipeptid. Katalytische Hydrierung und Ankondensation von Z-Sar-OH ergaben 5O % Tripeptid. Hydrierung und Peptidkupplung mit Boc-D-a4Hyp(Bu$^t$)-OH führten in 51 %iger

Ausbeute zum Tetrapeptid. Verseifung des Methylesters und Ankondensation des Tetrapeptids an H-MePhg-OBzl($NO_2$) ergaben 42 % Pentapeptid, dessen katalytische Hydrierung in 92 %iger Ausbeute zur Pentapeptidsäure 3 führte.

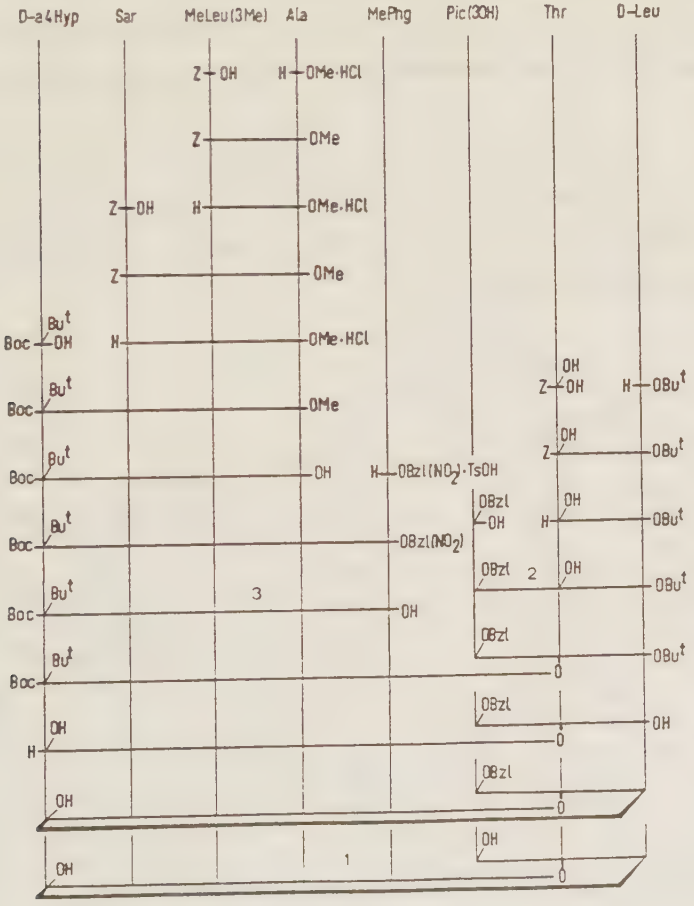


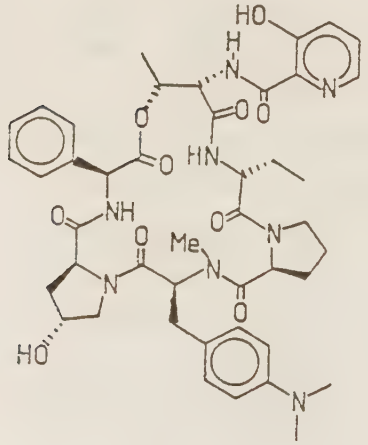

Abbildung 2: Syntheseschema des Etamycins nach Sheehan und Ledis [16]

Modellversuche zur Veresterung führten mit gemischten Anhydriden,

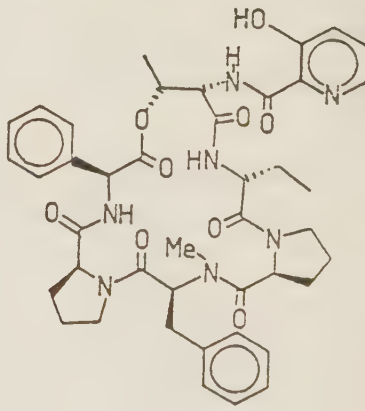
N,N'-Carbonyldiimidazol und EDCI zum Erfolg, wobei sich als bestes Veresterungsreagenz N,N'-Carbonyldiimidazol herauskristallisierte. Die Veresterung der beiden Fragmente 2 und 3 mit N,N'-Carbonyldiimidazol ergab jedoch nur 13.3 % an linearem Heptapeptid. Abspaltung der t.-Butylschutzgruppen und Cyclisierung des freien Peptids in großer Verdünnung mit EDCI führten, nach katalytischer Hydrierung des Benzylethers, in 45 %iger Ausbeute zu Etamycin.

1.3.2. Synthese des (4-Hydroxyprolin)$^6$-Pristinamycin $I_A$

Von G. Jollès und Mitarbeitern stammt die Synthese des linearen Pristinamycin $I_A$ [17], dessen Cyclisierung über die Esterbindung allerdings nicht gelang.



3a



3b

Abbildung 3a: (4-Hydroxyprolin)$^6$-Pristinamycin $I_A$

3b: Patricin A

Schließlich konnten Jollès und Boudaudon, durch Vereinfachung der Peptidsequenz, die Synthese des (4-Hydroxyprolin)$^6$-Pristinamycin $I_A$ abschließen [18], einem Antibiotika-Analogen in dem im Unterschied

zum natürlichen Pristinamycin $I_A$ die schwer zugängliche 4-Keto-pipecolinsäure durch 4-Hydroxyprolin ersetzt ist (siehe Abbildung 3a).

Da ausgedehnte Racemisierungsstudien bei der Amidbildung zwischen Thr und D-Abu keine Racemisierung zeigten, wurde zwischen diesen beiden Aminosäuren cyclisiert. Als C- bzw. N-terminaler Schutz des linearen Hexapeptids wurde der Benzylester bzw. die Z-Gruppe gewählt.

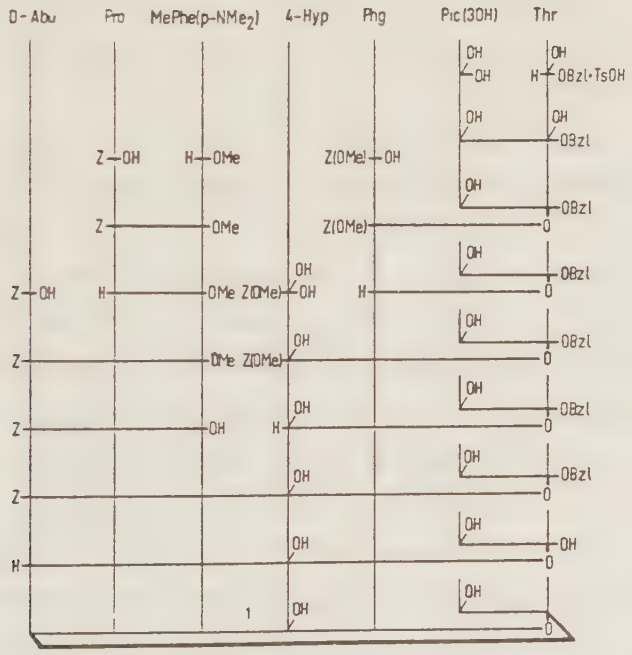



Abbildung 4: Syntheseschema des (4-Hydroxyprolin)$^6$-Pristinamycin $I_A$ nach Jollès und Boudaudon [18]

Der Aufbau des Peptids erfolgte durch Veresterung von Z(OMe)-Phg-OH mit Pic(3OH)-Thr-OBzl nach der Methode der gemischten Anhydride, Abspaltung der p-Methoxybenzyloxycarbonyl-Schutzgruppe mit TFA

und Ankondensation von Z(OMe)-4-Hyp-OH. Durch erneute Behandlung mit Trifluoressigsäure und Peptidkupplung mit dem zweiten Tripeptidfragment ergibt sich das Hexapeptid. Durch Optimierung der Cyclisierungsbedingungen gelang die Cyclisierung mit DCC als Kupplungsreagenz in 20 %iger Ausbeute.

### 1.3.3. Synthese des Patricin A

Eine noch weitergehende Vereinfachung der Peptidsequenz wählten Ondetti und Thomas bei der Synthese von Patricin A[19,20] (Abbildung 3b). Sie ersetzten bei diesem Virginiamycin-Analogen die 4-Ketopipecolinsäure durch Prolin.

Als Cyclisierungsstelle wurde die Amidbindung zwischen Pro und Phg ausgewählt um die Gefahr der Racemisierung gering zu halten. Für den C- und N-terminalen Schutz des linearen Hexapeptids wurde der t.-Butylester bzw. die Boc-Schutzgruppe gewählt. Der Aufbau des Hexapeptids erfolgte durch Kondensation eines aus zwei Aminosäuren bestehenden Depsipeptidbruchstückes 2 und einem Tetrapeptidfragment 3 (62 %), wobei die 3-Hydroxypicolinsäure erst nachträglich, durch Abspaltung der Z-Gruppe vom Thr und Aktivesterkupplung mit Pic(3OBzl)-ONp, eingeführt wurde (50 %).

Zur Synthese des Depsipeptidbruchstückes 2 wurde die Methode der gemischten Anhydride, Benzolsulfonsäurechlorid und N,N'-Carbonyldiimidazol erfolgreich getestet, wobei die Methode der gemischten Anhydride den geringsten Racemisierungsanteil aufwies.

Die Synthese des Tetrapeptidfragments 3 erfolgte durch linearen Aufbau, da eine konvergierende Synthesestrategie bei der 2 + 2-Kondensation auf erhebliche Schwierigkeiten stieß.

Die abschließende Cyclisierung mit EDCI in $CH_2Cl_2$ ergab nach Abspaltung des Benzylethers in 31 %iger Ausbeute Patricin A.

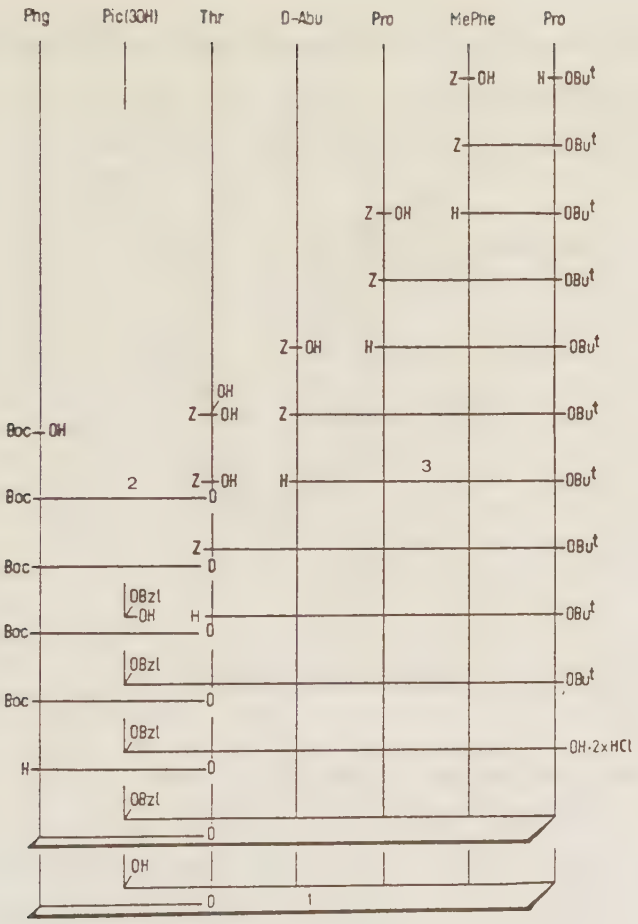



Abbildung 5: Syntheseschema des Patricin A von Ondetti und Thomas [19,20]

Aus unserem eigenen Arbeitskreis schließlich stammt die Synthese des Modellpeptids Boc-Ser-D-Abu-Pro-MePhe-Pip-Phg-OH von B. Kutscher [21,22], daß sich in drei wesentlichen Punkten vom Virginiamycin $S_1$ unterscheidet (siehe Abbildung 6). Die 4-Ketopipecolinsäure ist gegen Pipecolinsäure ausgetauscht, Threonin

gegen Serin und die 3-Hydroxypicolinsäure wurde durch die Boc-Gruppe ersetzt.

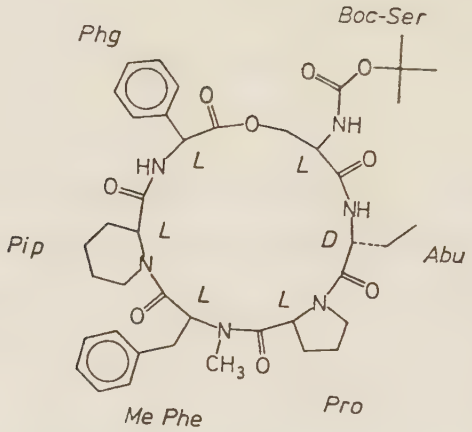



Abbildung 6: Boc-Ser-D-Abu-Pro-MePhe-Pip-Phg

## 1.4. Ziel der Arbeit

Ziel der Arbeit ist die Synthese von Virginiamycin $S_1$ (siehe Abbildung 7), einem der wichtigsten Vertreter der Streptogramin-B-Antibiotika.

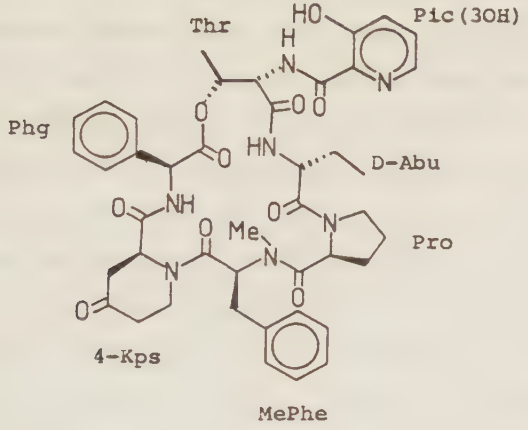



Abbildung 7: Virginiamycin $S_1$

Die Synthese sollte sowohl den Zugang zu den meisten anderen Streptogramin-B-Antibiotika, als auch Markierungen und die Herstellung von Analogen ermöglichen, die in Hinblick auf Komplexierungsstudien und Struktur-Wechselwirkungs-Beziehungen von Interesse sind [23].

Die bisher publizierten Synthesen aus dem Bereich der Streptogramin-B-Antibiotika sind bei dieser Problemstellung nur von geringem Nutzen, zudem enthält die Publikation von Jollès und Boudaudon [18] keinen experimentellen Teil. Da bei allen Synthesen die zusätzliche Funktionalität der Ketogruppe fehlt, sind hier die synthetischen Anforderungen geringer und erlauben Schutzgruppenkombinationen, die in Anwesenheit einer Ketogruppe nicht möglich sind.

## 2. Überlegungen zur Synthese von Virginiamycin $S_1$

Bei der Aufstellung eines Synthesekonzeptes für Virginiamycin $S_1$ sind verschiedene Punkte zu beachten, die einen wesentlichen Einfluß auf den Syntheseplan haben.

Eines der Hauptprobleme jeder Depsipeptidsynthese ist die Einführung der Esterbindung. Die Cyclisierung des linearen Peptides über die Esterbindung hat bisher nur in wenigen Fällen zum Erfolg geführt, wobei für diese Arbeit als wichtigstes Beispiel die gescheiterte Cyclisierung des linearen Pristinamycin von Jollès et al.[17,18] zu nennen ist. Die Einführung der Depsipeptidbindung über ein lineares Depsipeptidbruchstück und anschließende Cyclisierung über eine Amidbindung erscheint daher sinnvoller.

Eine zusätzliche Problematik des Virginiamycin $S_1$ liegt in der Sequenz -Pro-MePhe-4-Kps-, da hier drei N-alkylierte Aminosäuren direkt hintereinander liegen. Dies kann zu Schwierigkeiten bei der Kondensation führen und beinhaltet gleichzeitig die Gefahr der Diketopiperazinbildung.

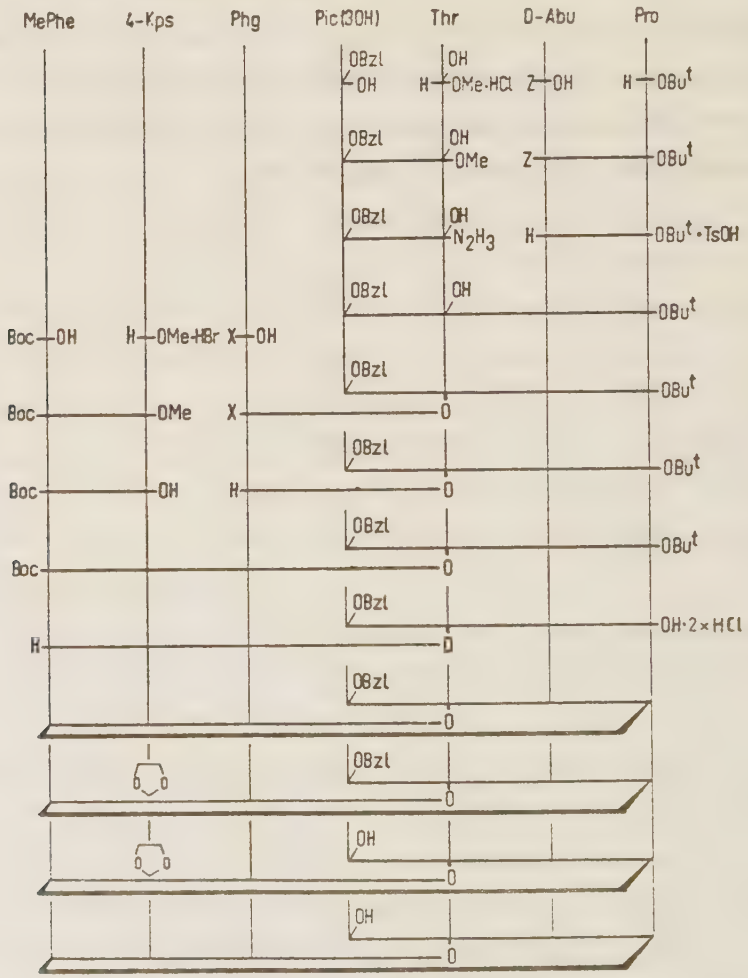
Ferner sind die beiden funktionellen Seitengruppen des Virginiamycin $S_1$, die Hydroxylgruppe der 3-Hydroxypicolinsäure und die Ketogruppe der 4-Ketopipecolinsäure zu berücksichtigen.

Die Hydroxylgruppe der 3-Hydroxypicolinsäure sollte während der Synthese geschützt sein um Nebenreaktionen bei der Esterbildung oder dem Ringschluß zum Cyclopeptid zu vermeiden. Als geeignete Schutzgruppe für die freie Hydroxylgruppe bietet sich dabei der Benzylether an, da sich die 3-Benzyloxypicolinsäure einfach und in größeren Mengen leicht herstellen läßt [24]. Bei der Abspaltung des Benzylethers durch katalytische Hydrierung sollte jedoch die Ketogruppe der 4-Ketopipecolinsäure geschützt sein, um eine

eventuell eintretende Reduktion der Ketogruppe zu vermeiden. Ketone sind als funktionelle Gruppen in den Seitenketten von Aminosäuren extrem selten, so daß in der Literatur nur sehr geringe Kenntnisse über mögliche Nebenreaktionen und Schutzgruppen in der Peptidchemie vorhanden sind. Der Schutz der Ketogruppe ist aus synthetischen Überlegungen erst nach der Cyclisierung möglich, da die direkte Einführung der geschützten 4-Ketopipecolinsäure eine zu große Einschränkung im Bereich der intermediären Schutzgruppen bedeuten würde.

## 3. Erstes Synthesekonzept zur Synthese von Virginiamycin $S_1$

Unter Berücksichtigung der genannten Punkte wurde der folgende Syntheseplan aufgestellt (siehe Syntheseschema 1).




Syntheseschema 1: Erstes Synthesekonzept zur Synthese von Virginiamycin $S_1$

Das Konzept sieht eine Cyclisierung zwischen Prolin und N-Methylphenylalanin vor, wobei als C- und N-terminaler Schutz der t.-Butylester bzw. die Boc-Schutzgruppe gewählt wurde.
Der Aufbau des linearen Hexapeptides erfolgt durch Veresterung von X-Phg-OH mit dem Tripeptid Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-OBu$^t$.
Für die N-terminale Schutzgruppe des Phenylglycins ergeben sich dabei erhebliche Einschränkungen, da eine katalytische Hydrierung wegen des Benzylethers, saure Abspaltung durch den t.-Butylester und basische Abspaltungsbedingungen wegen der gebildeten Esterbindung nicht mehr generell möglich sind. Für die N-terminale Schutzgruppe ergibt sich daraus die Forderung nach erhöhter Selektivität. Diese Forderung wird insbesondere von zwei Schutzgruppen, der α,α'-Dimethyl-3,5-dimethoxybenzyloxycarbonyl-Gruppe (Ddz-)[25,26,27] (Abspaltung durch 3 - 5 %ige Trifluoressigsäure selektiv zum t.-Butylester) und der 9-Fluorenylmethyloxycarbonyl-Gruppe (Fmoc-)[28,29] (Abspaltung durch sekundäre Amine) erfüllt.
Abspaltung der Ddz- bzw. Fmoc-Schutzgruppe und Kondensation mit dem Dipeptid Boc-MePhe-4-Kps-OH ergibt das beidseitig geschützte lineare Hexapeptid. Die saure Abspaltung der C- und N-terminalen Schutzgruppen vom t.-Butyltyp und anschließende Cyclisierung führt zum O-benzylgeschützten Virginiamycin $S_1$.
Ketalisierung der Ketogruppe, katalytische Hydrierung des Benzylethers und anschließende Abspaltung des Ketals vervollständigen den Syntheseplan zum Virginiamycin $S_1$.

### 3.1. Herstellung der Bausteine zur Peptidsynthese

Da Virginiamycin $S_1$ eine Reihe seltener Aminosäuren enthält, die entweder extrem teuer, oder überhaupt nicht käuflich erhältlich sind, mußten vor Beginn der Synthese die einzelnen Bausteine der Peptidsynthese hergestellt werden.

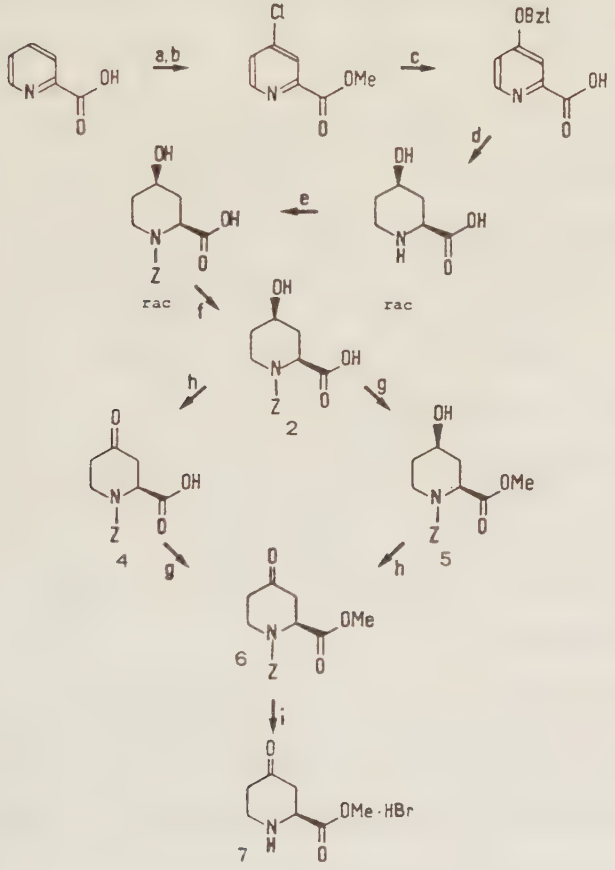
Mit den nur als Racemat erhältlichen Aminosäuren Phenylglycin und α-Aminobuttersäure wurde eine enzymatische Racematspaltung durchgeführt, indem ihre Chloracetylderivate [30] mit Schweinenierenacylase umgesetzt wurden [31,32,33].

Im Gegensatz dazu mußte die 3-Benzyloxypicolinsäure und die 4-Ketopipecolinsäure vollständig synthetisiert werden. Während sich die 3-Benzyloxypicolinsäure nach einer von J. T. Sheehan beschriebenen Methode [24,34] leicht in 3 Stufen aus 3-Hydroxypyridin herstellen läßt, erwies sich die Synthese der 4-Ketopipecolinsäure als langwierig und umständlich.

4-L-Ketopipecolinsäure läßt sich durch $CrO_3$-Oxydation aus natürlicher trans- [35] oder synthetischer cis-4-L-Hydroxypipecolinsäure [17] erhalten. Von den in der Literatur beschriebenen Synthesen der 4-Hydroxypipecolinsäure [17,36,37] wurde die von J. Jollès entwikkelte Synthese der cis-4-Hydroxypipecolinsäure [17] ausgewählt, da bei allen anderen Synthesen, wegen der geringen Ausbeuten und hohen Trennprobleme, eine Darstellung der gewünschten Verbindung in größeren Mengen nicht möglich ist.

Die angegebenen Daten und Ausbeuten der Synthese [17,35,38] ließen sich dabei bis zur Racematspaltung weitestgehend reproduzieren. Bei der entscheidenden Enantiomerentrennung durch fraktionierte Kristallisation der Chinin-Salze aus EE ergaben sich jedoch gravierende Unterschiede zur Literatur [17]. Während Jollès nach dreimaligem Umkristallisieren einen maximalen Drehwert von $-128^0$

angibt, wurde in mehreren Versuchen bei drei- bis viermaligem Umkristallisieren nur ein Drehwert von $-122^0$ bis $-127^0$ erreicht.




Syntheseschema 2: Syntheseschema des H-4-Kps-OMe·HBr

a) $SOCl_2$; b) MeOH; c) NaOBzl; d) Rh/Al (5 %ig) / 60 atm $H_2$;
e) Z-Cl; f) Chinin, frakt. Kristallisation; g) $SOCl_2$, MeOH;
h) $CrO_3$; i) HBr in AcOH

Weiterführende Kristallisationsversuche führten dann jedoch zu einer leichten Abnahme des Drehwertes, der wahrscheinlich auf zunehmende Zerstörung des Materials in der Siedehitze zurückzuführen ist. Nach Abtrennung des Chinins ergab sich für die freigesetzte Z-Pip(cis-4OH)-OH ein Drehwert von $-24.3^0$ bis $-24.8^0$, was bei einem Literaturwert [17] von $-62^0$ nur einer Anreicherung des L-Isomeren auf rund 70 % entsprechen würde. Im Gegensatz dazu führte die anschließende Oxydation des erhaltenen Materials zu Z-4-Kps-OH nach säulenchromatographischer Reinigung zu einem Drehwert von $-11.3^0$ (Literatur [17] $-11.5^0$). Zur Überprüfung der Enantiomerenreinheit der erhaltenen Z-Pip(cis-4OH)-OH wurde durch katalytische Hydrierung die Z-Gruppe entfernt und der Drehwert der freien Aminosäure ($-17.2^0$) mit der Literatur [35] ($-17.0^0$) verglichen. Um das erhaltene Ergebnis zusätzlich abzusichern wurde an Z-Pip (cis-4OH)-OMe die Enantiomerenreinheit NMR-spektroskopisch mit einem chiralen Shift-Reagenz überprüft (siehe Kapitel 7.4., Seite 59), wobei die optische Reinheit der Substanz eindeutig bewiesen werden konnte.

Abschließend muß die erhaltene Z-Pip(cis-4OH)-OH noch in den für die Synthese benötigten 4-Ketopipecolinsäuremethylester überführt werden. Dies ist prinzipell auf 2 Wegen möglich. Oxydation der Z-Pip(cis-4OH)-OH zu Z-4-Kps-OH, anschließende Veresterung zu Z-4-Kps-OMe und Abspaltung der Z-Gruppe durch HBr in Eisessig ergibt H-4-Kps-OMe·HBr in der gleichen Ausbeute (80 %), wie die Veresterung von Z-Pip(cis-4OH)-OH zu Z-Pip(cis-4OH)-OMe und darauf folgende Oxydation zu Z-4-Kps-OMe. Dem zweiten Syntheseweg wurde jedoch der Vorzug gegeben, da es sich bei Z-Pip(cis-4OH)-OMe um eine excellent kristallisierende Verbindung handelt, während alle anderen Verbindungen in dieser Reihe Oele oder nur sehr schwer

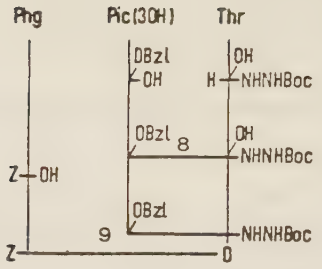
kristallisierende Verbindungen sind und so hier eine einfache und zusätzliche Reinigungsmöglichkeit des Materials besteht.

### 3.2. Optimierungsversuche zur Darstellung der Depsipeptidsequenz

Die Synthese der Estersequenz des Virginiamycin $S_1$ beinhaltet neben der Problematik eine Aminosäure mit einem sterisch sehr anspruchsvollen Alkohol zu verestern, zusätzlich das Problem, daß es sich bei dieser Aminosäure um eine der am stärksten zur Racemisierung neigenden Aminosäuren handelt. Für die Synthese bedeutet dies, daß ein Acylierungsmittel gefunden werden muß, welches einerseits zu einer genügenden Aktivierung der Carboxylgruppe des Phenylglycins führt, andererseits wiederum nicht so elektrophil sein darf, daß es zur Ketenbildung kommt. Um die geeigneten Bedingungen für die Darstellung der Estersequenz zu finden, sollten daher anhand einer geeigneten, leicht zugänglichen Modellverbindung die verschiedensten Veresterungsreagenzien auf ihre Verwertbarkeit überprüft werden.

Als geeignete Modellverbindung erwies sich das Dipeptid Pic(3OBzl)-Thr[Z-Phg-]-NHNH-Boc [33] (siehe Syntheseschema 3), da sich bei dieser Verbindung der Grad der Racemisierung NMR-spektroskopisch leicht nachweisen läßt.

Der Anteil an Pic(3OBzl)-Thr[Z-D-Phg-]-NHNH-Boc ergibt sich aus der Integration der NH-Signale des Phenylglycins bei 8.5 ppm (d, NH-L-Phg) und 8.4 ppm (d, NH-D-Phg) (siehe Abbildung 9a) oder bei 100°C aus den Signalintensitäten der $C_\gamma H_3$-Gruppe des Threonins (siehe Abbildung 9b).




Syntheseschema 3: Darstellung der Modellverbindung
Pic(3OBzl)-Thr[Z-Phg-]-NHNH-Boc

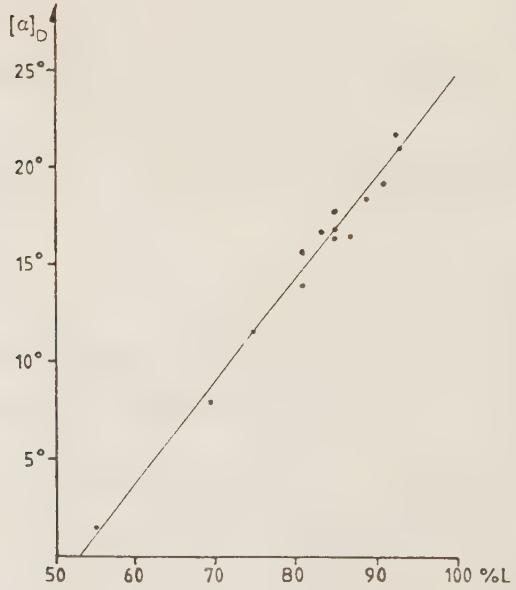



Abbildung 8: Kontrollgraphik zur Überprüfung der ermittelten Drehwerte und des Racemisierungsanteiles

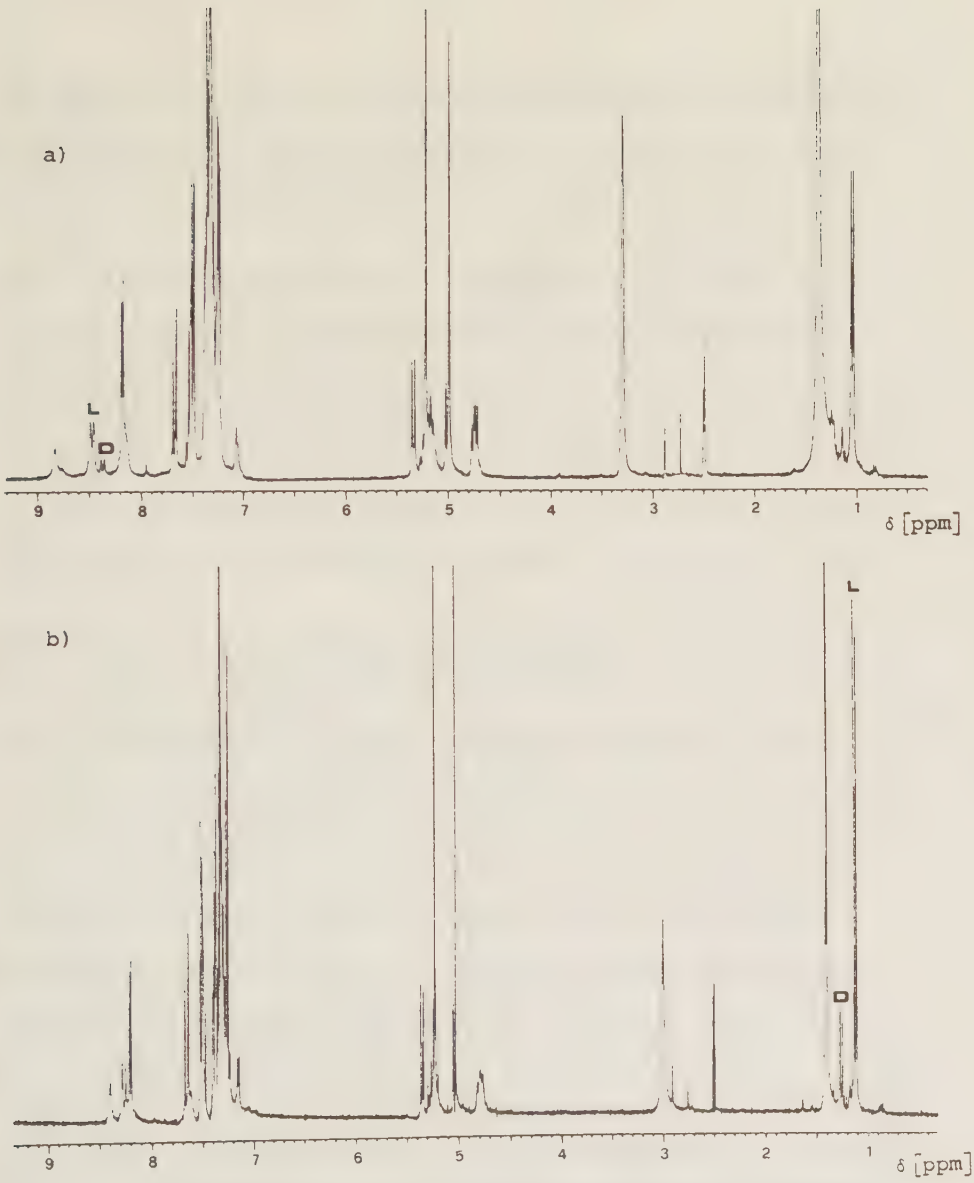



Abbildung 9: NMR-Spektrum von Pic(3OBzl)-Thr[Z-Phg-]-NHNH-Boc
Die markierten Stellen sind die Indikatorsignale zur Bestimmung des Racemisierungsgrades
a) bei 25°C b) bei 100°C

Als zusätzliche Kontrolle der ermittelten Werte dient dabei die graphische Auftragung des NMR-spektroskopisch ermittelten Anteiles an Pic(3OBzl)-Thr[Z-Phg-]-NHNH-Boc gegen den jeweils gemessenen Drehwert (siehe Abbildung 8).

Das bereits in der Diplomarbeit [39] erfolgreich eingesetzte Veresterungsreagenz Benzolsulfonsäurechlorid in Pyridin [40] zeigte bei der Untersuchung des Diastereomerengehaltes erhebliche Racemisierung (45 % D-Phg). Weitere Versuche mit Isobutylchloroformiat [19] und 4,6-Diphenyl-thieno[3,4-d][1,3]dioxol-2-on-5,5-dioxid (TDO-Carbonat) [41,42] ergaben keine Umsetzung zu Depsipeptid, während mit N-Propylphosphonsäureanhydrid (PPA) [43] der Anteil an D-Phg auf 30 % zurückging.

Die immer noch sehr hohe Racemisierungsrate ließ sich erst durch Verwendung des von Steglich als Acylisierungskatalysator vorgeschlagenen 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) [44,45] entscheidend senken. So führte die Verwendung des Systems TDO-Carbonat / DMAP zu einem Produkt, daß nur noch 25 % D-Phg enthält. Die beachtliche Steigerung der Reaktivität - TDO-Carbonat ohne DMAP führte zu keiner Umsetzung - ging dabei einher mit einer erheblichen Steigerung der Stereoselektivität. Von den unter DMAP-Zusatz getesteten Veresterungsreagenzien (siehe Tabelle 2) erbrachte das System PPA / DMAP mit 7 % D-Phg den geringsten Racemisierungsanteil. Eine Änderung der Reaktionsbedingungen, wie die Verwendung von Pyridin als Lösungsmittel bei dem System PPA / DMAP ergab keine Absenkung der Racemisierungsrate. Auch die Herabsetzung der Reaktionstemperatur auf -20°C bei den Systemen PPA / DMAP und N,N'-Carbonyldiimidazol (CDI) [46] / DMAP führte nur im Fall des CDI zu einer Verringerung der Racemisierung (7.5 % D-Phg) bei jedoch stark gesunkener Ausbeute. Das erhaltene Ergebnis ließ sich

Tabelle 2: Veresterungsversuche zur Darstellung der Depsipeptidsequenz des Virginiamycin $S_1$

| Veresterungsreagenz | Lösungsmittel | Äquiv. DMAP | Reaktionszeit und Temperatur | Ausbeute | % D-Phg | $\alpha_D^{25^0C}$ (c=1 in MeOH) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Benzolsulfonsäurechlorid [40] | Pyridin | — | 2 Stunden -15°C / 2 Tage -2°C | 57.6 % | 45 % | + 1.5° |
| PPA [43] | $CH_2Cl_2$ | — | " | 60 % | 30.5 % | + 7.9° |
| Isobutylchloroformiat [18,19] | $CH_2Cl_2$ | — | " | 0 % | —— | —— |
| TDO-Carbonat [41,42] | $CH_2Cl_2$ | — | " | 0 % | —— | —— |
| N,N'-Carbonyldiimidazol (CDI) [46] | $CH_2Cl_2$ | 1 | " | 53.1 % | 19 % | + 15.6° |
| Isobutylchloroformiat | $CH_2Cl_2$ | 1 | " | 0 % | —— | —— |
| TDO-Carbonat | $CH_2Cl_2$ | 1 | " | 46.4 % | 25 % | + 11.6° |
| PPA | $CH_2Cl_2$ | 1 | " | 73.1 % | 7 % | + 20.9° |
| N,N-Bis 2-oxo-3-oxazolidinylphosphorsäurechloriddiamid (BOP-Cl) [52] | $CH_2Cl_2$ | 1 | " | 25 % | 15 % | + 17.7° |
| EDCI [49] | $CH_2Cl_2$ | 1 | " | 62 % | 15 % | + 16.8° |
| $(Me_2N)_3P$ / $C_2Cl_6$ [50,51] | $CH_2Cl_2$ | 1 | " | 73 % | 9 % | + 19.1° |
| PPA | Pyridin | 1 | " | 68.8 % | 16.5 % | + 16.6° |
| PPA | $CH_2Cl_2$ | 1 | 4 Tage -20°C | 52 % | 13 % | + 16.4° |
| CDI | $CH_2Cl_2$ | 1 | " | 32.2 % | 7.5 % | + 21.7° |
| EDCI | $CH_2Cl_2$ | 0.1 | 2 Stunden -15°C / 2 Tage -2°C | 52 % | 19 % | + 13.9° |
| PPA | $CH_2Cl_2$ | 0.1 | " | 39.3 % | 11 % | + 18.3° |
| $(Me_2)_3P$ / $C_2Cl_6$ | $CH_2Cl_2$ | 0.1 | " | 23.9 % | 15 % | + 16.3° |

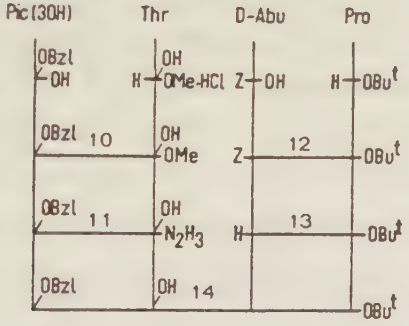
jedoch in der Synthese nicht verwerten, da die Verwendung von CDI als Acylierungsreagenz bei der Umsetzung von Fmoc-Phg-OH und Ddz-Phg-OH zur Abspaltung der Schutzgruppe führte.
Auch der von Olsen et al. [47] beobachtete Rückgang der Racemisierung bei Herabsetzung der Menge an zugesetzten DMAP ließ sich hier nicht bestätigen. So führte die Herabsetzung des DMAP-Gehaltes von einem auf 0.1 Equivalente DMAP bei den Acylierungsreagenzien N-Ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimidhydrochlorid (EDCI) [48,49], PPA und $(Me_2N)_3P$ / $C_2Cl_6$ [50,51] zu etwas höheren Racemisierungsraten bei gleichzeitig stark gesunkenen Ausbeuten.

## 3.3. Synthese des Tripeptidbausteins Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-OBu$^t$

### 3.3.1. 1. Synthesekonzept [39]

Bei der Aufstellung des Synthesekonzeptes für das Tripeptid Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-OBu$^t$ wurde von einem konvergierenden Syntheseplan ausgegangen. Die durch Peptidkupplung erhaltenen Aminosäurederivate Pic(3OBzl)-Thr-OMe und das Dipeptid Z-D-Abu-Pro-OBu$^t$ sollten durch anschließende Azidkupplung zum Tripeptid kondensiert werden. Als Kupplungsmethode wurde die Azidkupplung gewählt, da sie als racemisierungsärmste Kupplungsmethode der Peptidchemie gilt und so ein möglichst diastereomerenfreies Peptid zu erwarten ist [53].
Das recht einfache Synthesekonzept (siehe Syntheseschema 1.1) erwies sich in seiner Durchführung jedoch als ausgesprochen problematisch. So gelang die Ankondensation von Pic(3OBzl)-OH an H-Thr-OMe·HCl mit DCC (mit und ohne HOBt-Zusatz [54]) nicht. Erst durch eine Aktivesterkupplung mit 3-Benzyloxypicolinsäure-p-nitro-

phenylester [24] konnte die gewünschte Verbindung Pic(3OBzl)-Thr-OMe in 8.7 %iger Ausbeute erhalten werden.




Syntheseschema 1.1: Synthesekonzept des Tripeptidbausteins Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-OBu$^t$

Da sich aus den intensiv gefärbten Rohprodukten der DCC-Kupplungsversuche als einzig kristalline Substanz das N-acylierte Harnstoffderivat der 3-Benzyloxypicolinsäure isolieren ließ, führte dies schließlich zur Verwendung von wasserlöslichem Carbodiimid als Kupplungsreagenz, da hier das N-acylierte Harnstoffderivat auswaschbar ist und so leicht abgetrennt werden kann [48]. Die Amidbildung mit EDCI [+] als Kupplungsreagenz ergab das Aminosäurederivat Pic(3OBzl)-Thr-OMe in 78.8 %iger Ausbeute als analysenreine, kristalline Verbindung. Auch die Verwendung von PPA als Kupplungsreagenz sowie das System $(Me_2N)_3P$ / $C_2Cl_6$ / HOBt

[+] Eine verbesserte Darstellung von EDCI gelang durch Dehydratisierung des Thioharnstoffes nach einer Methode von Appel [55] mit $Ph_3P$ / $CCl_4$ (siehe experimenteller Teil, Seite 104).

lieferten das gewünschte Produkt, jedoch lagen hier die Ausbeuten etwas niedriger (siehe Tabelle 3).

| Kupplungsmethode | Ausbeute |
|---|---|
| DCC mit und ohne HOBt [54] | kein Produkt |
| Pic(3OBzl)-ONp [24] | 8.7 % |
| EDCI [48] | 78.8 % |
| PPA [43] | 74.5 % |
| $(Me_2N)_3P$ / $C_2Cl_6$ / HOBt [50,51] | 65.0 % |

Tabelle 3: Darstellung des Aminosäurederivates Pic(3OBzl)-Thr-OMe durch verschiedene Kondensationsmethoden.

Die darauffolgende Hydrazinolyse des Methylesters verlief glatt und unproblematisch in 83 %iger Ausbeute.
Die bisher gemachten Erfahrungen führten bei der Darstellung des zweiten Bruchstücks von vornherein zur Verwendung von wasserlöslichen Kupplungsreagenzien, die bei der anschließenden Aufarbeitung des Ansatzes problemlos entfernt werden können. Die cis/trans-Isomerie der Prolinbindung läßt erwarten, daß das Dipeptid Z-D-Abu-Pro-OBu$^t$ nicht, oder nur sehr schwer, kristallisierbar ist, so daß eine vollständige Entfernung des Dicyclohexylharnstoffes einer DCC-Kupplung nur schwer realisierbar wäre.
Die Peptidkupplung zum Dipeptid 12 führte schließlich, sowohl mit EDCI / HOBt, als auch mit PPA, zum analysenreinen Oel in quantitativer Ausbeute. Der bei der Kupplung verwendete Prolin-t.-butylester wurde dabei als freies Amin eingesetzt, da die Herstellung der entsprechenden kristallinen Salze nur in unbefriedigender Weise gelingt [56]. Die anschließende katalytische

Hydrierung liefert das N-terminal freie Dipeptid als kristallines Tosylatsalz in 96 %iger Ausbeute.

Die abschließende Azidkupplung nach Medzihradszky [53] zum Tripeptid erbrachte nach säulenchromatographischer Reinigung über Sephadex LH 20 das gewünschte Produkt in nur 32.3 % Ausbeute. In der Variante nach Honzl-Rudinger [53] konnte die Ausbeute an Tripeptid auf 41.1 % verbessert werden. Beide Varianten der Azidkupplung lieferten neben dem gewünschten Tripeptid in der säulenchromatographischen Reinigung einen Nachläufer, der als 2-Oxazolidon-Derivat 14b identifiziert werden konnte.

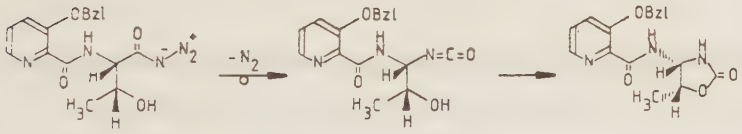


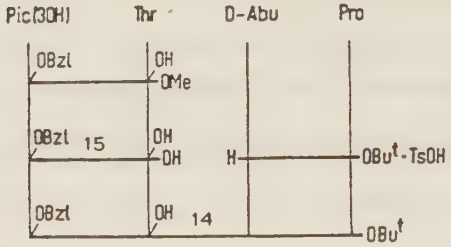

Abbildung 10: Cyclisierung von Pic(3OBzl)-Thr-$N_3$ zum 2-Oxazolidon-Derivat 14b

Bei der intramolekularen Cyclisierung des Threoninazids nach Curtius-Umlagerung zum 2-Oxazolidon-Derivat (siehe Abbildung 10) handelt es sich um eine bisher nur beim Serin beobachtete Nebenreaktion der Azidkupplung [53,57,58].

In der Variante nach Medzihradszky cyclisierten 29.1 % des eingesetzten Hydrazids, nach Honzl-Rudinger sogar 54.7 %, zum 2-Oxazolidon-Derivat. Die Gesamtausbeute an Tripeptid beträgt daher nur 26.9 %.

Die schlechten Ausbeuten führten schließlich zu einer Abwandlung des Synthesekonzepts. Anstelle der nur unbefriedigend verlauf-

fenden Azidkupplung, sollte die Peptidkondensation mit der freien Säure und einem entsprechenden Aktivierungsreagenz durchgeführt werden (siehe Syntheseschema 1.2). Eine erhöhte Racemisierung ließe sich dabei leicht durch Drehwertvergleich mit dem Produkt der Azidkupplung feststellen.




Syntheseschema 1.2: Synthesekonzept des Tripeptidbausteins Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-OBu$^t$

Die Verseifung des Threoninmethylesters verläuft glatt und problemlos in praktisch quantitativer Ausbeute, wenn bei der Isolierung des erhaltenen Carboxylatanions nur auf pH 4 angesäuert wird. Bei stärkerem Ansäuern (pH 2 - 3) erfolgt Protonierung des Pyridinrings und damit eine Erhöhung der Wasserlöslichkeit, die selbst bei Extraktion mit org. Lösungsmitteln nur noch zur Isolierung von 40 - 60 % der freien Säure führt.

Die abschließende Kondensation zum Tripeptid wurde mit einer Reihe von Kondensationsmitteln getestet (siehe Tabelle 4), wobei sich das System Carbodiimid / HOBt mit 56 - 58 % Ausbeute am besten bewährte.

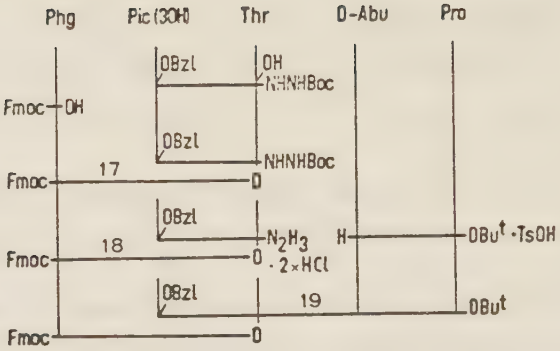
| Kupplungsmethode | Ausbeute |
|---|---|
| PPA | 12.5 % |
| $(Me_2N)_3P$ / $C_2Cl_6$ / HOBt | 42.2 % |
| DCC / HOBt | 55.8 % |
| EDCI / HOBt | 57.2 % |

Tabelle 4: Darstellung des Tripeptidbausteins Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-$OBu^t$ durch verschiedene Kondensationsmittel

Trotz der auch hier nicht ganz befriedigenden Ausbeute der 2 + 2-Kondensation gelang es die Gesamtausbeute auf 44.9 % zu steigern.

### 3.3.2. 2.Synthesekonzept

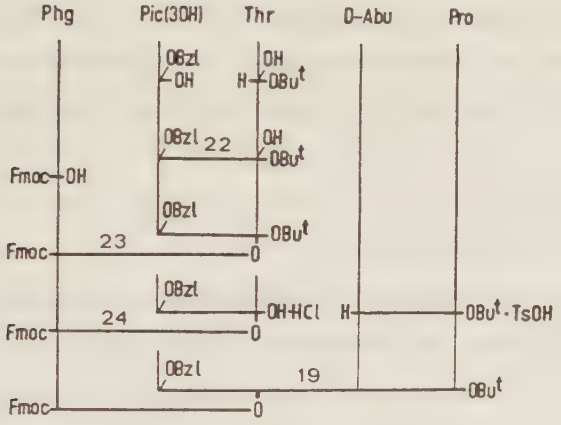
Die schlechten Erfahrungen bei der abschließenden Peptidkupplung lassen, insbesondere in Anbetracht der Ergebnisse bei der Azidkupplung, die Frage nach einer geeigneten Schutzgruppe für die Hydroxylgruppe des Threonins aufkommen. Hierfür stehen jedoch unter Berücksichtigung der bereits festgelegten Schutzgruppentaktik keine geeigneten unproblematischen Derivate zur Verfügung. Eine Umgehung dieses Problems wäre jedoch zu erreichen, indem der Veresterungsschritt des Syntheseplans vorgezogen würde und so die Depsipeptidbindung praktisch als Schutzgruppe der Hydroxylfunktion des Threonins dient. Das Schutzgruppenkonzept würde sich dadurch vom Schutz der Hydroxylgruppe des Threonins auf den N-terminalen Schutz des Phenylglycins verschieben, für den mit der Fmoc-Gruppe eine geeignete Schutzgruppe zur Verfügung steht. Für den Carboxylschutz des Threonins bietet sich damit das bereits verwendete Boc-Hydrazid, für eine anschließende Azidkupplung, bzw. der t.-Butylester für die anderen Kondensationsreagenzien an.




Syntheseschema 1.3: 2. Synthesekonzept des Tripeptidbausteins Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-$OBu^t$ nach der Azidmethode

Die Veresterung des Threoninderivates Pic(3OBzl)-Thr-NHNH-Boc mit Fmoc-Phg-OH 16 und dem Kondensationssystem PPA / DMAP in $CH_2Cl_2$ lieferte das gewünschte Depsipeptidfragment in 91 %iger Ausbeute. Die darauffolgende Boc-Abspaltung mit HCl in Dioxan ergab das freie Hydrazid in einer Ausbeute von 80.6 %. Die abschließende Azidkupplung nach Honzl-Rudinger führte jedoch nur zu 29 % zur Zielverbindung 19, während 43 % des eingesetzten Hydrazids als freie Säure Pic(3OBzl)-Thr[Fmoc-Phg-]-OH isoliert wurden.
Die Abwandlung des Synthesekonzepts auf den t.-Butylester (siehe Syntheseschema 1.4) erwies sich wegen der schweren Zugänglichkeit des Threonin-t.-butylesters als aufwendig.
Die t.-Butylierung von Z-Thr-OH liefert ein Produktgemisch aus Z-Thr-$OBu^t$ und Z-Thr($Bu^t$)-$OBu^t$ [59]. Durch vorsichtige t.-Butylierung gelang es Z-Thr-$OBu^t$ in einer Gesamtausbeute von 25 - 30 %

bei gleichzeitig 7 - 16 % Gehalt an Z-Thr-($Bu^t$)-$OBu^t$ zu erhalten.




Syntheseschema 1.4: 2. Synthesekonzept des Tripeptidbausteins Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-$OBu^t$ nach der PPA-Methode

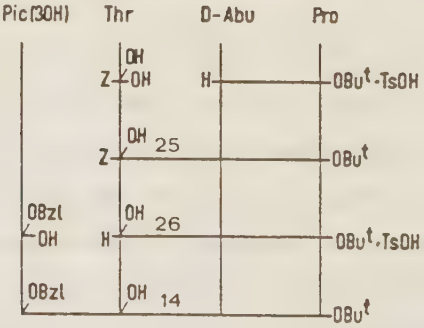
Höhere Ausbeuten ließen sich nicht erreichen, da unter noch vorsichtigeren Bedingungen nur die Gesamtausbeute stark abfiel, während unter drastischeren Bedingungen der Anteil an Z-Thr($Bu^t$)-$OBu^t$ stark zunahm. Die Trennung des Produktgemisches 20 gelingt nach katalytischer Hydrierung und Überführung in das Phosphitsalz [59]. Das erhaltene H-Thr-$OBu^t$·$H_3PO_3$ 21 erwies sich jedoch als zur Peptidkupplung ungeeignet. Erst nach vorheriger Abtrennung der phosphorigen Säure gelang die Kondensation zum Aminosäurederivat Pic(3OBzl)-Thr-$OBu^t$ mit PPA in 76 %iger Ausbeute.
Die Veresterung mit PPA / DMAP lieferte das Depsipeptidfragment 23 in 81 % Ausbeute. Die darauffolgende t-Butylesterabspaltung mit HCl in Dioxan führte in 80.8 %iger Ausbeute zur freien Säure.

Die abschließende Kondensation zum Tetradepsipeptid mit PPA in $CH_2Cl_2$ ergab jedoch nur 39 % Pic(3OBzl)-Thr[Fmoc-Phg-]-D-Abu-Pro-$OBu^t$.

Zusammengenommen müssen beide Versuche als Fehlschlag gewertet werden, da die Gesamtausbeuten für den Syntheseplan mit der Azidkupplung nur bei 15.3 % und mit der PPA-Methode bei 19.4 % liegt.

### 3.3.3. 3. Synthesekonzept

Aufgrund der schlechten Erfahrungen bei dem abschließenden Kondensationsschritt der konvergierenden Synthese, wurde das Synthesekonzept geändert und der Versuch eines linearen Aufbaus des Tripeptids durchgeführt.




Syntheseschema 1.5: Lineares Synthesekonzept für die Darstellung des Tripeptidbausteins Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-$OBu^t$

Die Peptidkupplung von Z-Thr-OH an H-D-Abu-Pro-$OBu^t$.TsOH mit EDCI / HOBt gelang in 94.8 %iger Ausbeute. Die darauffolgende

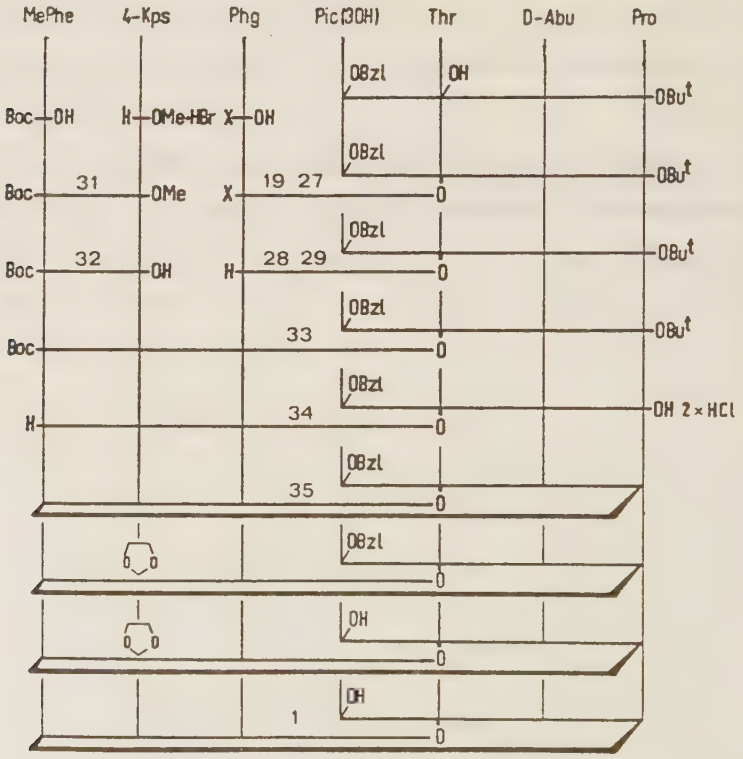
katalytische Hydrierung des analysenreinen Tripeptids führte in 95.1 %iger Ausbeute zum N-terminal entschützten Tripeptid 26. Die abschließende Ankondensation der 3-Benzyloxypicolinsäure mit EDCI / HOBt lieferte nach säulenchromatographischer Reinigung die Zielverbindung in guter Ausbeute (87.9 %).

Durch Verkürzung der Reaktionszeit von 2 Tagen auf 4 Stunden gelang es schließlich das gewünschte Tripeptid 14 ohne säulenchromatographische Reinigung in 89.7 %iger Ausbeute analysenrein zu erhalten.

Die Gesamtausbeute der linearen Synthese beträgt 77.6 % und ist damit deutlich dem konvergierenden Aufbau des Peptids überlegen.

### 3.4. Abschließende Synthese

Der anschließende Teil des Synthesekonzeptes (siehe Syntheseschema 1) sieht die Veresterung des Tripeptids 14 mit Ddz-Phg-OH oder Fmoc-Phg-OH vor.




Syntheseschema 1: 1. Synthesekonzept (Ausschnitt) zur Synthese von Virginiamycin $S_1$

X = Fmoc- 19 oder Ddz- 27

Die Veresterung des Tripeptids 14 mit Ddz-Phg-OH ergibt in guter Ausbeute (87 %) das Depsipeptidbruchstück 27. Die Abspaltung der Ddz-Schutzgruppe mit 5 %iger TFA in $CH_2Cl_2$ verläuft jedoch nicht

ganz befriedigend, da bereits nach Zugabe geringster Mengen TFA die vorher farblose Lösung eine tiefrote Farbe einnimmt und das erhaltene TFA-Salz 28 leicht verunreinigt ist. Im Gegensatz dazu läßt sich die Fmoc-Gruppe aus dem Depsipeptid 19 (Ausbeute 92 %) problemlos mit $Et_2NH$ in $CH_2Cl_2$ entfernen. Beide N-terminal freien Bruchstücke ergeben jedoch in der darauffolgenden Kondensation identische Hexapeptide in gleicher Ausbeute. Trotzdem ist der Verwendung der Fmoc-Gruppe als Schutzgruppe für das Phenylglycin der Vorzug zu geben, da sich Fmoc-Phg-OH wesentlich einfacher und in höherer Ausbeute als Ddz-Phg-OH herstellen läßt.

Im Gegensatz zur Veresterung erwies sich die Darstellung des zur anschließenden Kondensation zum Hexapeptid benötigten Dipeptids Boc-MePhe-4-Kps-OH als problematisch.

Für die Darstellung von Peptiden mit N-alkylierten Aminosäuren empfiehlt sich nach Mc Dermott [60,61] zur Kondensation besonders die Verwendung von N-Hydroxysuccinimidestern nach der Aktivestermethode. Jedoch ließ sich in diesem Fall bei der Umsetzung von Boc-MePhe-ONSu 30 mit H-4-Kps-OMe.HBr keine Umsetzung zum Dipeptid feststellen und nach 2 Tagen Reaktionszeit wurde das eingesetzte Boc-MePhe-ONSu fast vollständig reisoliert. Eine Peptidkupplung nach der Carbodiimid-Methode mit EDCI / HOBt lieferte dagegen in 19.6 %iger Ausbeute das gewünschte Dipeptid 31.

Die ungenügende Umsetzung zum Peptid führte schließlich zur Verwendung von DMAP als Acylierungskatalysator. So gelang es mit dem System PPA / DMAP die Ausbeute auf 29.4 % zu steigern und mit EDCI / DMAP auf 75 %. Eine erhöhte Racemisierung während der Peptidkupplung, wie sie von Merrifield et al. [62] bei der Festphasensynthese teilweise beobachtet wurde, konnte dabei nicht festgestellt werden.

Die anschließende Verseifung des Methylesters zur freien Säure unter den üblichen Bedingungen (1.1 Equivalente 1 N NaOH) führte zu keiner Umsetzung. Zwar löste sich das in MeOH nur schwerlösliche Dipeptid während der Basenzugabe sofort unter schwacher Gelbfärbung auf, bei der anschließenden Aufarbeitung wurde der Methylester jedoch quantitativ wieder erhalten. Erst die Verwendung von 2.2 Äquivalenten 1 N NaOH brachte die quantitative Verseifung des Methylesters. Dies läßt darauf schließen, daß sich zuerst das Enolatanion der 4-Ketopipecolinsäure bildet und dann erst, mit der überschüssigen Base, die Esterverseifung eingeleitet wird.

Die darauffolgende Peptidkondensation mit EDCI / DMAP führt nach säulenchromatographischer Reinigung in 64 %iger Ausbeute zum linearen Hexapeptid 33.

Die Abspaltung der C- und N-terminalen Schutzgruppen des linearen Hexapeptides mit HCl in Dioxan führt, ähnlich wie bei der Ddz-Abspaltung, zu einer intensiven Rotfärbung der Reaktionslösung.

Die anschließende Cyclisierung des verunreinigten, entschützten Hexapeptides 34 mit EDCI / DMAP in $CH_2Cl_2$ führt nach säulenchromatographischer Trennung über Sephadex LH 20 und darauffolgender Reinigung des Rohproduktes mittels HPLC in 15 % Ausbeute zum Diastereomerengemisch des O-benzylierten Virginiamycin $S_1$ 35.

Die Identifizierung der Verbindung erfolgte durch Elementaranalyse, Massen- und NMR-Spektrum.

Im NMR-Spektrum ist das Erscheinen eines $C_\beta$-Protons der 4-Ketopipecolinsäure bei 0.3 ppm, bedingt durch die Abschirmung des Phenylrings des benachbarten N-Methylphenylalanins, auffallend. Dieser Effekt ist bei keinem der linearen Vorläufer zu beobachten und damit ein guter Indikator für eine erfolgreiche Cycli-

Abbildung 11: NMR-Spektrum des Diastereomerengemisches des O-benzylierten Virginiamycin $S_1$ 35

sierung.

Die Abtrennung des falschen Diastereomeren (20 % durch Racemisierung während der Veresterung am Phenylglycin; siehe NMR-Spektrum S. 37) gelang auf dieser Stufe nicht und wurde auf einen späteren Zeitpunkt im Syntheseplan verschoben.

Die, die Synthese abschließende, Abspaltung des Benzylethers gelang jedoch nicht.

Der Versuch die Ketogruppe der Verbindung 35 zu ketalisieren [63] führte zu keiner Umsetzung. Auch der Versuch das O-benzylierte Virginiamycin $S_1$ direkt und ohne Schutz der Ketogruppe katalytisch zu hydrieren mißlang. Die DSC-Untersuchung des Reaktionsverlaufs zeigte zwar die Abspaltung des Benzylethers, jedoch handelte es sich bei dem entstehenden Produkt nicht um Virginiamycin $S_1$, so daß anzunehmen ist, daß zuerst die Ketogruppe der 4-Ketopipecolinsäure vollständig reduziert wurde und dann erst die Abspaltung des Benzylethers erfolgte.

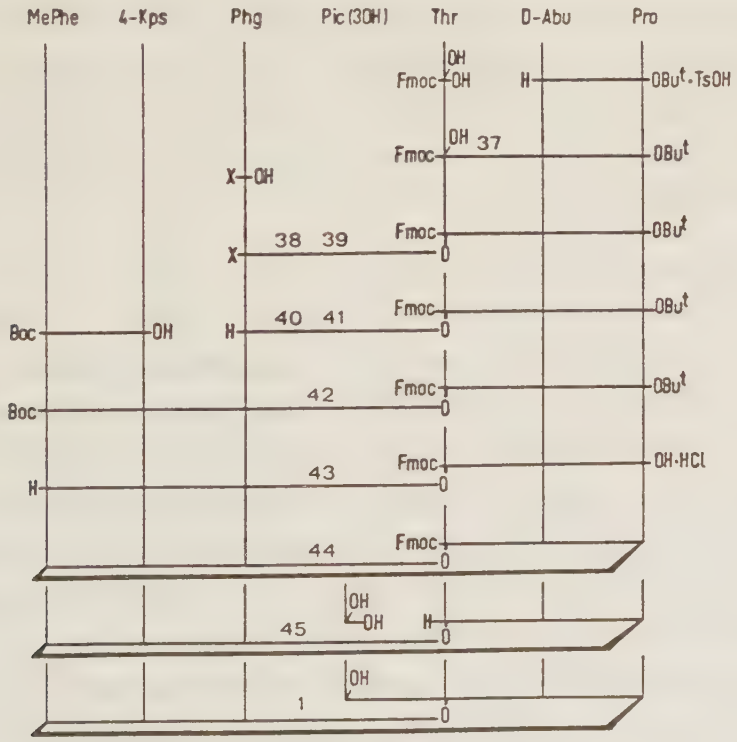
Das Problem des O-benzylierten Virginiamycin $S_1$ läßt sich auf zwei verschiedenen Wegen umgehen.

Die erste Möglichkeit läge in der Synthese des cyclischen Hexapeptids ohne die 3-Hydroxypicolinsäure. Die 3-Hydroxypicolinsäure würde dann erst im letzten Syntheseschritt ungeschützt an das fertige Cyclopeptid ankondensiert.

Die zweite Möglichkeit läge in der Verwendung der ungeschützten 3-Hydroxypicolinsäure, so daß die Cyclisierung des linearen Hexapeptids als letzter Syntheseschritt direkt zum Virginiamycin $S_1$ führen würde, wobei allerdings die Gefahr von zusätzlichen Nebenreaktionen in Kauf genommen werden muß.

## 4. Zweites Synthesekonzept zur Synthese von Virginiamycin $S_1$

Eine Änderung des bisherigen Syntheseschemas mit dem Ziel die 3-Hydroxypicolinsäure im letzten Schritt der Synthese ungeschützt anzukondensieren, beinhaltet für den N-terminalen Schutz des Thr die Forderung nach einer permanenten Schutzgruppe.




Syntheseschema 4: 2. Synthesekonzept zur Synthese von Virginiamycin $S_1$

X = Ddz- 38 oder Z- 39

Dieser Forderung würde die Fmoc-Gruppe entsprechen, da sie unter

den sauren Abspaltungsbedingungen der t.-Butylester- und Boc-Abspaltung stabil ist. Als N-terminale Schutzgruppe des Phenylglycins bietet sich dann die Ddz-Gruppe an, mit Einschränkungen auch die Z-Gruppe, da Atherton [64] nur eine begrenzte Stabilität der Fmoc-Schutzgruppe gegen katalytische Hydrierung festgestellt hat. Abspaltung der N-terminalen Schutzgruppe des Phenylglycins und Peptidkupplung mit dem Dipeptid Boc-MePhe-4-Kps-OH führen zum linearen Hexapeptid. Abspaltung der C- und N-terminalen Schutzgruppen vom t.-Butyltyp und anschließende Cyclisierung liefern das Fmoc-geschützte Cyclopeptid. Entfernung der Fmoc-Schutzgruppe und Ankondensation der 3-Hydroxypicolinsäure vervollständigen das Syntheseschema.

Synthetischer Teil

Die Darstellung des Tripeptids Fmoc-Thr-D-Abu-Pro-OBu$^t$ erwies sich in der Durchführung aufwendiger als erwartet, da Fmoc-Thr-OH 36 die bisher einzige nicht kristallisierbare Fmoc-Aminosäure ist [29]. Die Verwendung von rohem Fmoc-Thr-OH führte daher zu einem verunreinigten Tripeptid, daß erst nach säulenchromatographischer Reinigung in 85 %iger Ausbeute analysenrein erhalten werden konnte. Allerdings führte auch die Verwendung von säulenchromatographisch gereinigtem und analysenreinem Fmoc-Thr-OH zu keiner Verbesserung in der Qualität des rohen Tripeptids.
Die anschließende Veresterung zum Depsipeptid ergab das Tetrapeptid Fmoc-Thr[Ddz-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$ 38 in sehr guter Ausbeute (97 %). Allerdings führte auch hier, wie im vorangegangenen Syntheseschema, die Abspaltung der Ddz-Gruppe zu Nebenreaktionen. Die Verwendung der Z-Schutzgruppe als N-terminalen Schutz des Phenylglycins lieferte das entsprechende Tetrapeptid 39 in knapp 74 %iger Ausbeute. Die anschließende Abspaltung der Z-Gruppe

durch Ammoniumformiat über Pd/C (10 %ig) [65] ergab das entschützte Acetatsalz 41 in guter Ausbeute (85 %) und Qualität.

Bei der darauffolgenden Kondensation zum Hexapeptid erbrachte die Verwendung des TFA-Salzes 40 der Ddz-Abspaltung die gewünschte Verbindung 42 in einer Ausbeute von 67 %, während mit dem Acetatsalz der Z-Gruppenabspaltung die Ausbeute an Hexapeptid nur bei 51 % lag, so daß auf eine weitere Verwendung der Z-Gruppe als N-terminale Schutzgruppe des Phenylglycins verzichtet wurde.

Die Abspaltung der beiden t.-Butylschutzgruppen mit HCl in Dioxan führte, ähnlich wie bei dem vorangegangenen Syntheseschema zu Nebenreaktionen und damit zu einer teilweisen Zerstörung des Hexapeptids. Die Verwendung von TFA zur Abspaltung führte zu keiner Verbesserung des Ergebnisses, während die Senkung der Reaktionstemperatur von RT auf +4 $^0$C zur Herabsetzung der Nebenreaktionen führte.

Die nun folgende Cyclisierung mit EDCI / DMAP in $CH_2Cl_2$ brachte das erwünschte Cyclopeptid 44 in nur knapp 8 % Ausbeute als noch stark verunreinigtes Rohprodukt.

Die Abspaltung der Fmoc-Gruppe mit $Et_2NH$ in $CH_2Cl_2$ verlief glatt und problemlos. Die abschließende Ankondensation der 3-Hydroxypicolinsäure mit EDCI / HOBt in $CH_2Cl_2$ führte nach säulenchromatographischer Reinigung über Sephadex LH 20 in 72.8 % Ausbeute zu einem Substanzgemisch, daß laut NMR-Spektrum rund 25 % Virginiamycin $S_1$ enthielt. Nach Auftrennung des Substanzgemisches durch HPLC und anschließendem Umkristallisieren aus MeOH konnte reines Virginiamycin $S_1$ in einer Ausbeute von 21.8 % isoliert werden (zur Charakterisierung siehe Seite 44, 45 und Seite 100).

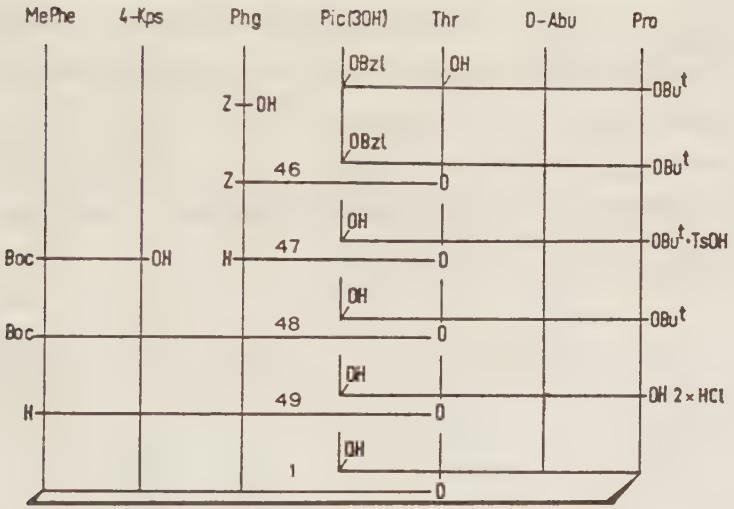
## 5. Drittes Synthesekonzept zur Synthese von Virginiamycin $S_1$

Die zweite Möglichkeit einer Änderung des ersten Syntheseplans liegt in der Verwendung der ungeschützten 3-Hydroxypicolinsäure, wodurch die Cyclisierung als abschließende Reaktion direkt zu Virginiamycin $S_1$ führen würde.
Da der Schutz der Hydroxylgruppe jedoch für die Veresterung zum Depsipeptid unabdingbar ist, ist ein direkter Einbau der ungeschützten 3-Hydroxypicolinsäure nicht möglich. Aus der Forderung, daß während der Veresterung die 3-Hydroxypicolinsäure geschützt sein muß, andererseits aber der Benzylether vor der Einführung der 4-Ketopipecolinsäure in das Peptidgerüst abgespalten worden sein muß, ergibt sich der Zeitpunkt der Abspaltung des Benzylethers im Syntheseplan zwangsläufig. Aus der dadurch festgelegten Abspaltungsbedingung, der katalytischen Hydrierung, resultiert ebenfalls zwingend die Z-Schutzgruppe als N-terminale Schutzgruppe des Phenylglycins.
Kondensation mit dem Dipeptid Boc-MePhe-4-Kps-OH zum Hexapeptid, Abspaltung der C- und N-terminalen Schutzgruppe und abschließende Cyclisierung vervollständigen den Syntheseplan (siehe Syntheseschema 5).

### Synthetischer Teil

Die Veresterung des Tripeptids 14 mit Z-Phg-OH ergab mit dem Kondensationssystem PPA / DMAP das gewünschte Depsipeptid 46 in einer Ausbeute von 66.5 %. Der Versuch die Ausbeute durch Verwendung anderer Veresterungsreagenzien zu steigern führte nicht zum Erfolg. Bei der Verwendung des Kondensationssystems $(Me_2N)_3P$ / $C_2Cl_6$ / DMAP lag die Ausbeute an Depsipeptid bei nur 48 % und mit dem

System EDCI / DMAP wurden sogar nur 41 % Depsipeptid, mit jeweils etwas geringerem Drehwert, erhalten.




Syntheseschema 5: 3. Synthesekonzept zur Synthese von Virginiamycin $S_1$

Der Versuch Z-Gruppe und Benzylether mit Ammoniumformiat über Pd/C (10 %ig) [65] abzuspalten schlug fehl und führte zur Zerstörung der Substanz. Erst unter den Bedingungen der normalen katalytischen Hydrierung verlief die Abspaltung glatt und problemlos.

Die anschließende Kondensation zum Hexapeptid 48 mit EDCI / DMAP führte in 52 %iger Ausbeute zu der gewünschten Verbindung. Eine Zunahme der Nebenreaktionen durch die freie Hydroxylgruppe konnte dabei nicht festgestellt werden.

Die nun folgende Abspaltung der t.-Butylschutzgruppen mit HCl in

Dioxan verlief besser als in den vorangegangenen Synthesen, da das entschützte Hexapeptid aus der Reaktionslösung ausfiel. Die abschließende Cyclisierung des linearen Hexapeptides mit EDCI / DMAP in $CH_2Cl_2$ ergab nach säulenchromatographischer Reinigung über Sephadex LH 20 26 % Rohprodukt. Nach Auftrennung des Isomerengemisches durch HPLC und anschließendem Umkristallisieren aus MeOH verblieben 14 % analysenreines Virginiamycin $S_1$.
Das erhaltene Produkt wurde durch Vergleich mit natürlichem Virginiamycin $S_1$ (siehe experimenteller Teil, sowie die Abbildungen 12 und 13) identifiziert.

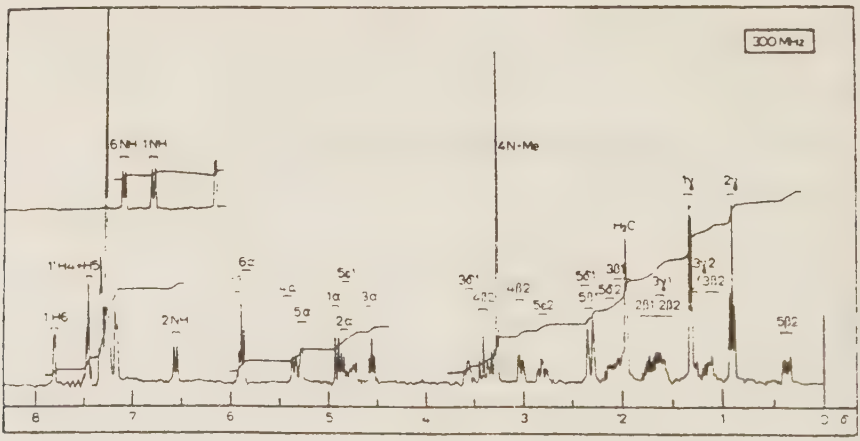



Abbildung 12: NMR-Spektrum von natürlichem Virginiamycin $S_1$ aus Lit. [66]

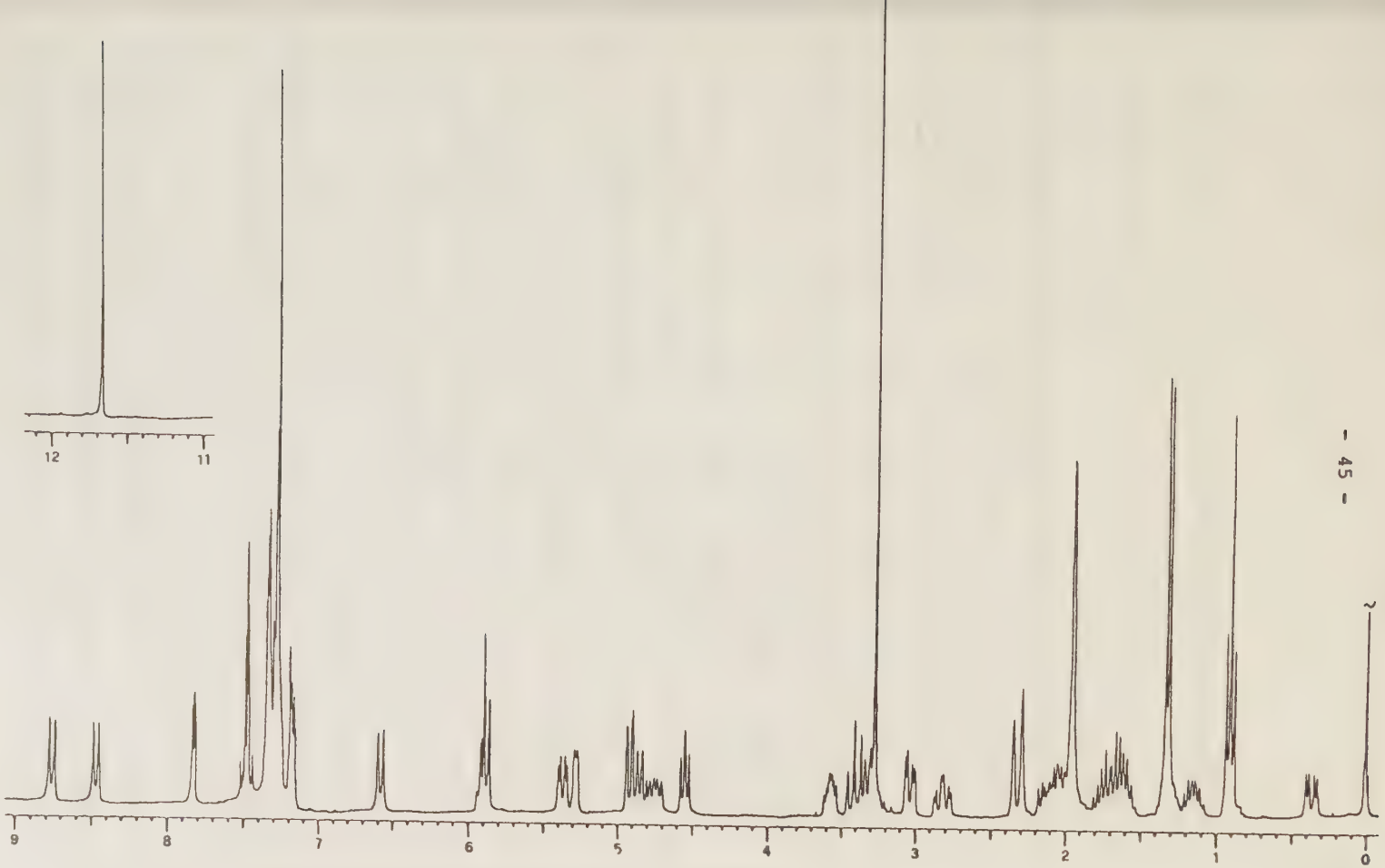



Abbildung 13: NMR-Spektrum des synthetischen Virginiamycin $S_1$

## 6. Zusammenfassung und Ausblick

Ziel der Dissertation war die Synthese des Depsipeptid-Antibiotikums Virginiamycin $S_1$.

Ausgehend von dem Gedanken eines möglichst vollständigen Schutzes der funktionellen Seitengruppen wurde ein Synthesekonzept (Kapitel 3) erstellt, das jedoch auf der Stufe des Benzylether geschützten Virginiamycin $S_1$ scheiterte, da die anschließende Ketalisierung der Ketofunktion nicht gelang. Da auch die direkte katalytische Hydrierung der Verbindung 35 nicht zu Virginiamycin $S_1$ führte, wurde das Synthesekonzept in Bezug auf die 3-Hydroxypicolinsäure geändert.

Das Problem der Benzylether geschützten 3-Hydroxypicolinsäuree ließ sich dabei prinzipiell auf 2 verschiedenen Wegen umgehen.

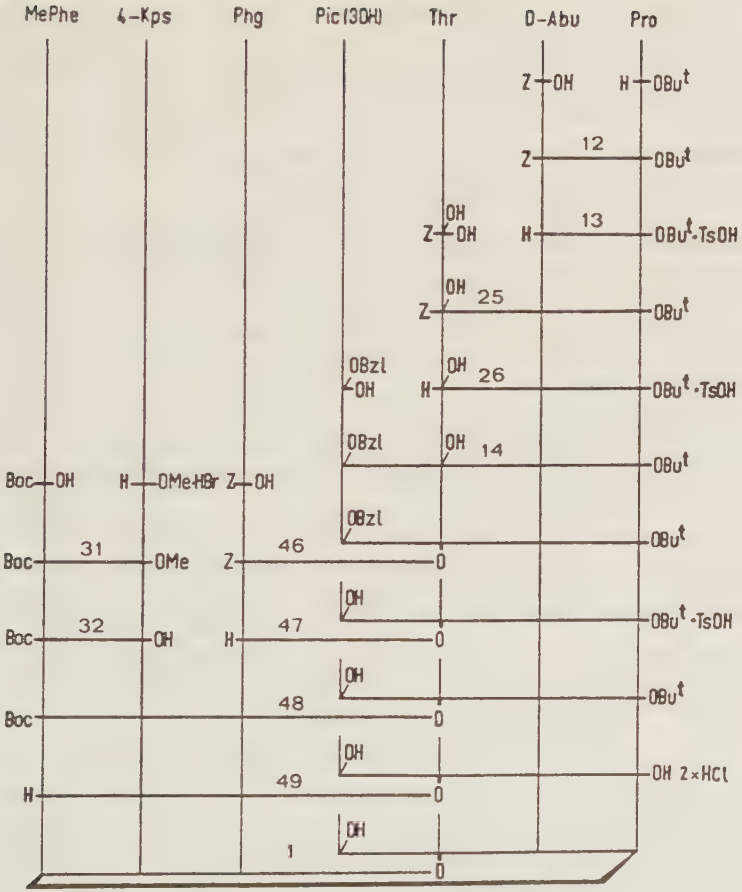
Die erste Möglichkeit besteht in der nachträglichen Einführung der ungeschützten exocyclischen 3-Hydroxypicolinsäure an das fertige Cyclopeptid als letztem Reaktionsschritt (Kapitel 4).

Unter Verwendung der Fmoc-Gruppe als permanenter N-terminaler Schutzgruppe konnte die Synthese des Virginiamycin $S_1$ erfolgreich abgeschlossen werden, jedoch lag die Ausbeute der letzten beiden Synthesestufen, Cyclisierung und Einführung der 3-Hydroxypicolinsäure, bei nur 1.7 %.

Die zweite Möglichkeit einer Änderung des ersten Synthesekonzepts lag in der Verwendung der ungeschützten 3-Hydroxypicolinsäure und der Cyclisierung als letztem Syntheseschritt.

Die Durchführung dieses Synthesekonzepts (Kapitel 5; siehe auch Syntheseschema 5.1) erfolgte durch den linearen Aufbau des Tripeptides 14 (Kapitel 3.3.3) in einer Gesamtausbeute von 77.6 % und Veresterung mit Z-Phg-OH durch das Kondensationssystem PPA /

DMAP (66.5 %).




Syntheseschema 5.1: Vollständiges Syntheseschema zur Synthese von Virginiamycin $S_1$

Gleichzeitige Abspaltung des Benzylethers und der Z-Schutzgruppe, sowie anschließender Ankupplung des Dipeptids 31, das nach Peptidkupplung mit EDCI / DMAP und Verseifung des Methylesters in 75 %iger Ausbeute erhalten wurde, ergab das lineare Hexapeptid 48 (52 % Ausbeute). Abspaltung der t.-Butylschutzgruppen und Cyclisierung führten in 14 %iger Ausbeute zu Virginiamycin $S_1$.
Die erwarteten zusätzlichen Komplikationen, bedingt durch die ungeschützte 3-Hydroxypicolinsäure, konnten bei der Durchführung der Synthese nicht bestätigt werden.
Während die Gesamtausbeute des 2. Syntheseplans, bezogen auf dem wertvollen H-4-Kps-OMe·HBr, bei nur 0.87 % (in 7 Stufen) lag, konnte die Ausbeute im 3. Syntheseplan auf 5.5 % (in 5 Stufen) gesteigert werden.
Das letzte Synthesekonzept nach dem Prinzip des minimalen Schutzes ist damit dem vorangegangenem Syntheseschema deutlich überlegen. Es sollte zudem den Zugang zu allen anderen Streptograminen möglich machen, da sich diese in synthetisch gravierender Weise nur durch Variationen bei der 4-Ketopipecolinsäure und dem N-Methylphenylalanin von Virginiamycin $S_1$ unterscheiden (siehe Tabelle 1). Da diese beiden Aminosäuren bei der Synthese des Virginiamycin $S_1$ in Form des Dipeptids Boc-MePhe-4-Kps-OH als letzte Aminosäuren eingeführt werden, ergibt sich neben einer großen Variationsbreite des Synthesekonzepts auch ein geringer Substanzbedarf für das Dipeptid.

# 7. Experimenteller Teil

## 7.1. Allgemeines

Für die Synthesen wurden, sofern nicht anders angegeben, Reagenzien der Qualität "pro analysi" bzw. DAB 6 oder DAB 7 verwendet. Alle Lösungsmittel wurden vor ihrem Einsatz destilliert und / oder absolutiert.

Für die gelchromatographischen Trennungen wurden mit Sephadex LH 20 (Fa. Pharmacia) gefüllte Säulen (Länge = 80 - 150 cm, Durchmesser = 2 - 8 cm) verwendet. Als Laufmittel dienten DMF oder MeOH. Die Fraktionen wurden mit Hilfe eines Durchflußpolarimeters der Fa. Thorn Automation (Typ 243) und eines Uvicords der Fa. LKB detektiert und in einem Fraktionssammler aufgefangen.

MPLC-Trennungen wurden an mit Kieselgel LiChroPrep Si 60 (15 - 25 µ) gefüllten Säulen (250 x 24 mm) durchgeführt. Die Detektion der einzelnen Fraktionen erfolgte mit Hilfe eines Uvicords der Fa. LKB. Die Präparierung der Säulen erfolgte nach der Methode von Helmchen und Flockerzi [67].

HPLC-Trennungen wurden mit einem Gerät ALC/GPC 204 der Fa. Waters an einer halbpräparativen "Reversed-Phase-C-18"-Säule (µ-Bondapak, 10 x 250 mm) durchgeführt.

Die Identität und Reinheit der dargestellten Verbindungen wurde durch Dünnschichtchromatographie, Schmelzpunktsbestimmung, Drehwertmessung, IR- und NMR-Spektroskopie überprüft und soweit sinnvoll, mit Elementaranalyse und Massenspektrum belegt.

Die Schmelzpunkte wurden in einer Apparatur nach Tottoli oder auf einem Kofler-Heiztisch bestimmt; sie sind nicht korrigiert.

Drehwerte wurden an einem Polarimeter der Fa. Perkin-Elmer (Typ 141) gemessen. Der spezifische Drehwert berechnet sich nach der

folgenden Formel:

$$[\alpha]_{\lambda}^{T} = \frac{\alpha \cdot 100}{l \cdot c \cdot \rho}$$

$\alpha$= Meßwert — $\lambda$ = Wellenlänge [nm]

T = Meßtemperatur — l = Schichtdicke [dm]

c = Konzentration [g/100 ml] — $\rho$ = Dichte des Lösungsmittels

Für die Dünnschichtchromatographie wurden Fertigplatten SI F/ $UV_{254\ nm}$ mit Fluoreszenzindikator der Fa. Riedel-de Häen verwendet. Folgende Laufmittelgemische wurden benutzt:

A Essigester - n-Butanol - Pyridin - Wasser (20:10:3:5)

B n-Butanol - Eisessig - Wasser (3:1:1)

C Chloroform - Methanol - Eisessig (95:5:3)

IR-Spektren wurden mit einem Gitter-Infrarot-Spetralphotometer 257 der Fa. Perkin-Elmer aufgenommen. Es werden nur die Hauptbanden angegeben.

Die NMR-Spektren wurden bei einigen wenigen Substanzen an einem Bruker HX 90 (90 MHz), das mit einem Computer der Fa. Nicolet (Typ Nic-80/S-2702-D) ausgerüstet ist, durchgeführt. Die meisten Spektren wurden an einem Bruker WH 270 Spektrometer (270 MHz), das mit einem ASPECT 2000 Computer, einer Magnetspeichereinheit DRI 30 disk drive (Fa. Data Recording) und einer Temperatureinheit BVT 1000 ausgerüstet ist, gemessen.

Das Massenspektrum der Verbindung 14b wurde mit einem Massenspektrometer SM-1B der Fa. Varian aufgenommen. Alle anderen Massenspektren wurden an einem FAB-Massenspektrometer im Arbeitskreis von Prof. Dr. H. Schwarz an der TU Berlin gemessen.

Die Elementaranalysen wurden im Arbeitskreis von Prof. Dr. W. Ried durchgeführt.

## 7.2. Allgemeine Arbeitsvorschriften

Arbeitsvorschrift I: Peptidkupplung mit N-Propylphosphonsäureanhydrid (PPA) [43]

10 mmol N-geschützte Aminosäure oder Peptidsäure, 10 mmol Aminosäure oder Peptidester und, sofern angegeben, 610 mg (5 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) werden in 50 ml $CH_2Cl_2$ gelöst bzw. suspendiert. Bei -15°C werden nacheinander 4.1 ml (37 mmol) N-Methylmorpholin (NMM) [68] und 8.8 g PPA-Lösung (50 %ig in $CH_2Cl_2$) langsam zugetropft. Nach dem Auftauen auf RT (ca. 4 Stunden) wird die Reaktionslösung noch 2 Tage bei RT gerührt und dann das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird zwischen 200 ml Essigester und 50 ml Wasser verteilt, mehrmals mit je 30 ml ges. $NaHCO_3$-Lösung, 5 %iger Citronensäurelösung und 1 x 30 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen und über $Na_2SO_4$ getrocknet. Nach Abzug des Lösungsmittels wird das erhaltene Peptid, entsprechend den Einzelvorschriften behandelt.

Arbeitsvorschrift II: Peptidkupplung nach der Carbodiimidmethode (DCC oder EDCI) mit und ohne Acylierungskatalysator (HOBt oder DMAP)

10 mmol N-geschützte Aminosäure oder Peptidsäure, 10 mmol Aminosäure- oder Peptidester und, sofern angegeben, 1.35 g (10 mmol) HOBt oder 610 mg (5 mmol) DMAP werden in 50 ml $CH_2Cl_2$ gelöst bzw. suspendiert. Bei -15°C wird nun, nach Zugabe der benötigten Menge NMM [68], eine Lösung von 2.47 g (12 mmol) DCC in 20 ml $CH_2Cl_2$ zugetropft oder 2.30 g (12 mmol) EDCI (Herstellung siehe Seite 104) fest zugegeben. Nach dem Auftauen auf RT (ca. 4 Stunden) wird die Reaktionslösung noch 2 Tage bei RT gerührt. Das Lösungsmittel

wird am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand bei Verwendung von EDCI als Kupplungsreagenz analog Arbeitsvorschrift I aufgearbeitet. Wurde DCC als Kupplungsreagenz verwendet, wird der Rückstand in wenig Essigester aufgenommen und für mehrere Stunden im Kühlschrank aufbewahrt. Der ausgefallene Dicyclohexylharnstoff wird abfiltriert und die verbliebene Lösung analog Arbeitsvorschrift I aufgearbeitet.

Arbeitsvorschrift III: Peptidkupplung mit Trisdimethylaminophosphan / Hexachlorethan / HOBt [51]

Herstellung des Kupplungsreagenzes: 2.61 g (11 mmol) $C_2Cl_6$ werden in 20 ml $CH_2Cl_2$ gelöst und bei $+4^0$C tropfenweise mit 2.18 ml (12 mmol) $(Me_2N)_3P$ (hergestellt nach Lit. [69]) versetzt (stark exothermer Reaktionsverlauf). Nach beendeter Zugabe wird das Eisbad entfernt und die Lösung 1 Stunde bei RT gerührt.

Peptidkupplung: 10 mmol N-geschützte Aminosäure oder Peptidsäure, 10 mmol Aminosäure- oder Peptidester und 1.35 g (10 mmol) HOBt werden in 30 ml $CH_2Cl_2$ gelöst bzw. suspendiert und bei $-15^0$C nacheinander mit 2.2 ml (20 mmol) NMM [68] und der Dichlorphosphoranlösung tropfenweise versetzt. Nach dem Auftauen auf RT (ca. 4 Stunden) wird die Reaktionslösung noch 2 Tage bei RT gerührt und anschließend analog Arbeitsvorschrift I aufgearbeitet.

Arbeitsvorschrift IV: Veresterung mit PPA / DMAP

15 mmol N-geschützte Aminosäure, 10 mmol der Alkoholkomponente und 610 mg (5 mmol) DMAP werden in 50 ml $CH_2Cl_2$ gelöst. Bei $-15^0$C werden nacheinander 4 ml (36 mmol) NMM [68] und 13.2 g PPA-Lösung (50 %ig in $CH_2Cl_2$) zugetropft. Nach beendeter Zugabe wird noch

2 Stunden bei $-15^0$ bis $-10^0$C gerührt und die Reaktionslösung anschließend für 6 Tage bei $-2^0$C im Kühlschrank aufbewahrt. Nach Zugabe einiger Tropfen Wasser wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand zwischen 200 ml Essigester und 50 ml Wasser verteilt. Die org. Phase wird wie üblich gewaschen und über $Na_2SO_4$ getrocknet. Nach Abzug des Lösungsmittels wird das erhaltene Substanzgemisch, entsprechend den Einzelvorschriften, aufgetrennt und gereinigt.

Arbeitsvorschrift V: Cyclisierung mit EDCI / DMAP

0.5 mmol des C- und N-terminal ungeschützten Peptidhydrochloridsalzes werden in 5 ml eiskaltem $CH_2Cl_2$ suspendiert und mit 0.22 ml (2 mmol) NMM versetzt. Nach 3 Minuten hat sich eine klare Lösung gebildet. Lösungsmittel und überschüssiges NMM werden am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand an der Oelpumpe getrocknet.
Das Peptid wird nun in 500 ml $CH_2Cl_2$ gelöst und bei $-5^0$C mit 610 mg (5 mmol) DMAP und 1.92 g (10 mmol) EDCI versetzt. Die Reaktionslösung wird noch kurz, bis zur vollständigen Auflösung der Reagenzien, gerührt und anschließend für 3 Tage bei $-2^0$C und 3 Tage bei RT aufbewahrt. Zur Aufarbeitung wird die $CH_2Cl_2$-Lösung mit 100 ml Wasser gewaschen, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand analog Arbeitsvorschrift I weiter gereinigt.

## 7.3. Liste der synthetisierten Verbindungen

(Alle Aminosäurebezeichnungen beziehen sich auf die L-Konformere. D-Aminosäuren und ihre Derivate werden ausdrücklich als solche bezeichnet.)

| | |
|---|---|
| Z-Pip(cis-4OH)-OH | 2 |
| H-Pip(cis-4OH)-OH·$H_2O$ | 3 |
| Z-4-Kps-OH | 4 |
| Z-Pip(cis-4OH)-OMe | 5 |
| Z-4-Kps-OMe | 6 |
| H-4-Kps-OMe·HBr | 7 |
| Pic(3OBzl)-Thr-NHNH-Boc | 8 |
| Pic(3OBzl)-Thr[Z-Phg-]-NHNHBoc | 9 |
| Pic(3OBzl)-Thr-OMe | 10 |
| Pic(3OBzl)-Thr-$N_2H_3$ | 11 |
| Z-D-Abu-Pro-$OBu^t$ | 12 |
| H-D-Abu-Pro-$OBu^t$·TsOH | 13 |
| Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-$OBu^t$ | 14 |
| Pic(3OBzl)-Thr-OH | 15 |
| Fmoc-Phg-OH | 16 |
| Pic(3OBzl)-Thr[Fmoc-Phg-]-NHNH-Boc | 17 |
| Pic(3OBzl)-Thr[Fmoc-Phg-]-$N_2H_3$·2xHCl | 18 |
| Pic(3OBzl)-Thr[Fmoc-Phg-]-D-Abu-Pro-$OBu^t$ | 19 |
| Z-Thr-$OBu^t$ + Z-Thr($Bu^t$)-$OBu^t$ | 20 |
| H-Thr-$OBu^t$·$H_3PO_3$ | 21 |
| Pic(3OBzl)-Thr-$OBu^t$ | 22 |
| Pic(3OBzl)-Thr[Fmoc-Phg-]-$OBu^t$ | 23 |
| Pic(3OBzl)-Thr[Fmoc-Phg-]-OH·HCl | 24 |
| Z-Thr-D-Abu-Pro-$OBu^t$ | 25 |

H-Thr-D-Abu-Pro-OBu$^t$·TsOH 26

Pic(3OBzl)-Thr[Ddz-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$ 27

Pic(3OBzl)-Thr[H-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$·TFA 28

Pic(3OBzl)-Thr[H-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$ 29

Boc-MePhe-ONSu 30

Boc-MePhe-4-Kps-OMe 31

Boc-MePhe-4-Kps-OH 32

Pic(3OBzl)-Thr[Boc-MePhe-4-Kps-Phg-]-D-Abu-Pro-OBut 33

Pic(3OBzl)-Thr[H-MePhe-4-Kps-Phg-]-D-Abu-Pro-OH·2xHCl 34

Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-MePhe-4-Kps-Phg¬ 35

Fmoc-Thr-OH 36

Fmoc-Thr-D-Abu-Pro-OBu$^t$ 37

Fmoc-Thr[Ddz-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$ 38

Fmoc-Thr[Z-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$ 39

Fmoc-Thr[H-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$·TFA 40

Fmoc-Thr[H-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$·AcOH 41

Fmoc-Thr[Boc-MePhe-4-Kps-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$ 42

Fmoc-Thr[H-MePhe-4-Kps-Phg-]-D-Abu-Pro-OH·HCl 43

Fmoc-Thr-D-Abu-Pro-MePhe-4-Kps-Phg¬ 44

H-Thr-D-Abu-Pro-MePhe-4-Kps-Phg¬ 45

Pic(3OH)-Thr-D-Abu-Pro-MePhe-4-Kps-Phg¬ 1

Pic(3OBzl)-Thr[Z-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$ 46

Pic(3OH)-Thr[H-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$·TsOH 47

Pic(3OH)-Thr[Boc-MePhe-4-Kps-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$ 48

Pic(3OH)-Thr[H-MePhe-4-Kps-Phg-]-D-Abu-Pro-OH·2xHCl 49

EDCI 50

## 7.4. Synthesevorschriften

Z-Pip(cis-4OH)-OH ≙ [17]

durch fraktionierte Kristallisation von Z-D,L-Pip(cis-4OH)-OH mit Chinin

89.37 g (320 mmol) Z-D,L-Pip(cis-4OH)-OH und 103.2 g (318.4 mmol) Chinin werden in 1.2 l abs. EtOH gelöst und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird an der Oelpumpe zu festen Schaum getrocknet und anschließend mehrmals aus 1.2 l Essigester umkristallisiert (0.5 Stunden Rückfluß, 4 Stunden Rekristallisationszeit). Dabei ist eine zunehmende Schwerlöslichkeit zu beobachten, die dazu führt, daß sich das Material bereits nach der zweiten Umkristallisation nicht mehr vollständig auflöst.

| Ansatz | Entwicklung von $[\alpha]_D^{26^0C}$ für c = 1 in EtOH | $[\alpha]_D^{25^0C}$ der freien Z-AS-OH |
|---|---|---|
| 1 | $-122.0^0$, $-126.6^0$, $-127.0^0$ | $-24.8^0$ |
| 2 | $-114.6^0$, $-122.1^0$, $-117.7^0$, $-121.7^0$, $-120.9^0$, $-119.8^0$ | $-24.6^0$ |
| 3 | $-113.2^0$, $-120.5^0$, $-122.9^0$, $-123.6^0$, $-121.3^0$ | $-24.3^0$ |

Tabelle 5: Drehwertentwicklung der Chinin-Salze bei verschiedenen Ansätzen

Nach Abbruch der fraktionierten Kristallisation wird das erhaltene Chinin-Salz in 1 l 15 %iger Ammoniaklösung suspendiert und 1 Stunde unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen auf RT wird das ausgefallene Chinin abfiltriert und die verbliebene Lösung unter Eiskühlung mit konz. HCl auf pH 2 - 3 angesäuert. Die wässrige Suspension wird unter NaCl-Sättigung mit 7 x 200 ml Essigester extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über

$Na_2SO_4$ getrocknet.

Ausbeute: 24.21 g Oel (54.2 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{25^0C} = -24.3^0$ (c = 1 in EtOH)

Lit [17]: $[\alpha]_D^{25^0C} = -62^0$ (c = 1 in EtOH)

DSC: $R_f$ A 0.55; B 0.47; C 0.37

IR (NaCl): 3400 $cm^{-1}$ (b, NH- und OH-Valenz); 1680 $cm^{-1}$ (b, CO-Säure und Urethan)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$[ppm] 7.34 (m, 5 H, Phenyl); 5.09 (s, 2 H, Bzl-$CH_2$); 4.49 (d, J = 5.5 Hz, 1 H, $C_\alpha H$); 3.91 (m, 1 H, $C_\gamma H_e$); 3.74 - 3.69 (m, 1 H, $C_\varepsilon H_e$); 3.55 - 3.2 (m, 2 H, $C_\varepsilon H_a$ und OH); 2.27 - 2.18 (m, 1 H, $C_\delta H_a$); 1.83 - 1.75 (m, 1 H, $C_\beta H_e$); 1.65 - 1.45 (m, 2 H, $C_\beta H_a$ und $C_\delta H_e$)

H-Pip(cis-4OH)-OH·$H_2O$ ≙ [35]

233 mg (0.8 mmol) Z-Pip(cis-4OH)-OH werden in 4o ml MeOH, gelöst mit 50 mg Pd/C-Katalysator (10 %ig) versetzt und 12 Stunden bei RT und Atmosphärendruck hydriert. Nach Abfiltration des Katalysators und gründlichem Waschen mit Wasser, wird der Rückstand aus Wasser/EtOH umkristallisiert.

Ausbeute: 89 mg (68.2 %) Smp. 265 $^0$C

Drehwert: $[\alpha]_D^{23^0C} = -17.2^0$ (c = 1 in Wasser)

Lit [35]: $[\alpha]_D^{23^0C} = -17^0$ (c = 1 in Wasser)

DSC: $R_f$ A 0.05; B 0.06; C 0.00

IR (KBr): 1600 $cm^{-1}$ (b, CO-Carboxylatanion)

Z-4-Kps-OH ≙ [17]

11.17 g (40 mmol) Z-Pip(cis-4OH)-OH werden in 400 ml Aceton gelöst und bei +4$^0$C tropfenweise mit 39.6 ml Jones-Reagenz versetzt. Nach beendeter Zugabe wird 2 Stunden bei RT gerührt,

erneut auf +4°C abgekühlt und zur Zerstörung von überschüssigem $CrO_3$ vorsichtig mit 23 ml MeOH versetzt. Nach einer halben Stunde bei RT werden die ausgefallenen Chromsalze über etwas Kieselgel abfiltriert und gewaschen. Die verbliebene Lösung wird mit 330 ml Eiswasser versetzt und mit 7 x 100 ml $Et_2O$ extrahiert. Die vereinigten etherischen Phasen werden mit 3 x 50 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen und über $Na_2SO_4$ getrocknet. Nach Abzug des Lösungsmittels verbleibt ein blaßgrünes Oel, daß zur weiteren Umsetzung rein genug ist.

Ausbeute: 10.6 g Oel (95.6 %)

Zum Drehwertvergleich wurde eine Probe zusätzlich säulenchromatographisch durch MPLC mit $CH_2Cl_2$/MeOH (9 : 1) als Laufmittel gereinigt.

Drehwert: $[\alpha]_D^{23°C} = -11.3^0$ (c = 1 in EtOH)

Lit [17]: $[\alpha]_D^{23°C} = -11.5^0$ (c = 1 in EtOH)

DSC: $R_f$ A 0.52; B 0.67; C 0.48

IR (NaCl): 3100 $cm^{-1}$ (b, OH-Valenz); 1740 - 1670 $cm^{-1}$ (b, CO)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$[ppm] 7.35 (m, 5 H, Phenyl); 5.13 (s, 2 H, Bzl-$CH_2$); 4.88 (d x d, 1 H, $C_\alpha H$); 4.1 - 3.95 (m, 1 H, $C_\varepsilon H$); 3.52 - 3.15 (m, 1 H, $C_\varepsilon H$); 3.02 - 2.9 (d x d, 1 H, $C_\beta H$); 2.67 - 2.3 (m, 3 H, $C_\beta H$ und $C_\delta H_2$)

Z-Pip(cis-4OH)-OMe 5

14 g (50 mmol) Z-Pip(cis-4OH)-OH werden in 250 ml abs. MeOH gelöst und bei -15°C nacheinander mit 5.5 ml (50 mmol) NMM und 5.5 ml (75 mmol) Thionylchlorid versetzt. Nach dem Auftauen auf RT (r. 4 Stunden) wird die Reaktionslösung über Nacht bei RT gerührt. Nach Abzug von Lösungsmittel und überschüssigem $SOCl_2$ wird der Rückstand zwischen 200 ml Essigester und 50 ml Wasser

verteilt. Die org. Phase wird wie üblich gewaschen und über $Na_2SO_4$ getrocknet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abgezogen und der kristalline Rückstand getrocknet.

Ausbeute: 14 g (95.4 %) Smp. 103°C

Drehwert: $[\alpha]_D^{20°C} = -27.1^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.83; B 0.69; C 0.64

IR (KBr): 3500 $cm^{-1}$ (OH-Valenz); 1725 $cm^{-1}$ (CO-Ester); 1670 $cm^{-1}$ (CO-Urethan);

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$[ppm] 7.35 (m, 5 H, Phenyl); 5.11 (b, 2 H, Bzl-$CH_2$); 4.64 (b, 1 H, OH); 4.61 (d, 1 H, $C_\alpha H$); 3.90 (b, 1 H, $C_\gamma H$); 3.76 - 3.7 (m, 1 H, $C_\varepsilon H$); 3.6 (s, 3 H, OMe); 3.52 - 3.26 (m, 1 H, $C_\varepsilon H$); 2.27 - 2.15 (m, 1 H, $C_\beta H$); 1.87 - 1.79 (m, 1 H, $C_\beta H$); 1.70 - 1.49 (m, 2 H, $C_\delta H_2$)

$^1$H-NMR (270 MHz; $CDCl_3$): Zur Überprüfung der Enantiomerenreinheit der Verbindung werden 29 mg Z-Pip(cis-4OH)-OMe und 13 mg Tris[3-(heptafluoropropyl-hydroxymethylen)-D-camphorato]-europium (III) in 0.5 ml $CDCl_3$ gelöst und gemessen. Durch Vergleich mit einer entsprechenden Probe des Racemats (siehe Abbildung 14a) ergibt sich aus der Anzahl der Methylestersignale eindeutig die optische Reinheit der Substanz (siehe Abbildung 14b). Für das Racemat ergeben sich, bedingt durch cis/trans-Isomerie der Z-Gruppe, 4 Singuletts, während das Spektrum der optisch reinen Verbindung nur die beiden Singuletts der cis/trans-Isomerie zeigen.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{15}H_{19}NO_5$ | ber. | C 61.42 | H 6.53 | N 4.77 |
| 293.32 | gef. | 61.32 | 6.31 | 4.58 |

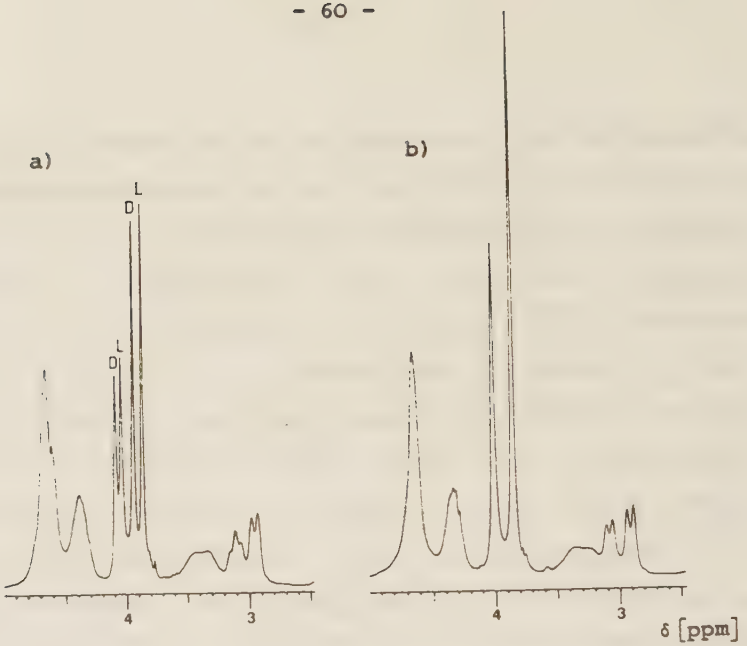



Abbildung 14: Ausschnitt eines 270 MHz-Spektrums von 29 mg Z-D,L-Pip(cis-4OH)-OMe (Abbildung 14a) bzw. Z-Pip(cis-4OH)-OMe (Abbildung 14b) in 0.5 ml $CDCl_3$ unter Zusatz von 13 mg Tris[3-(heptafluoropropyl-hydroxymethylen)-D-camphorato]-europium (III)

Z-4-Kps-OMe 6

a) durch Oxydation von Z-Pip(cis-4OH)-OMe mit Jones-Reagenz

11.73 g (40 mmol) Z-Pip(cis-4OH)-OMe werden analog 4 mit Jones-Reagenz oxydiert.

Ausbeute: 10.8 g Oel (92.7 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = -15.3^0$ (c = 1 in MeOH)

b) durch Veresterung von Z-4-Kps-OH

9.7 g (35 mmol) Z-4-Kps-OH werden in 150 ml MeOH gelöst und bei $+4^0C$ tropfenweise mit 5.1 ml (75 mmol) $SOCl_2$ versetzt. Nach dem Auftauen auf RT (ca. 4 Stunden) wird die Reaktionslösung über

Nacht bei RT gerührt. Nach Abzug von Lösungsmittel und überschüssigem $SOCl_2$ wird der Rückstand in 300 ml Essigester aufgenommen, wie üblich gewaschen und über $Na_2SO_4$ getrocknet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand im Hochvakuum intensiv getrocknet.

Ausbeute: 9.56 g Oel (93.8 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = -14.8^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.89; B 0.84; C 0.90

IR (NaCl): 1740 $cm^{-1}$ (CO-Ester); 1700 $cm^{-1}$ (b, CO-Keton und Urethan)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$[ppm] 7.38 (m, 5 H, Phenyl); 5.15 (s, 2 H, Bzl-$CH_2$); 4.99 (m, 1 H, $C_\alpha H$); 4.06 - 3.96 (m, 1 H, $C_\varepsilon H$); 3.66 - 3.53 (m, 4 H, OMe + $C_\varepsilon H$); 2.95 (d x d, 1 H, $C_\beta H$); 2.66 - 2.34 (m, 3 H, $C_\beta H + C_\delta H_2$)

| $C_{15}H_{17}NO_5$ | ber. | C 61.85 | H 5.88 | N 4.81 |
|---|---|---|---|---|
| 291.31 | gef. | 61.71 | 5.90 | 4.78 |

H-4-Kps-OMe·HBr 7

17.48 g (60 mmol) Z-4-Kps-OMe werden mit 45 ml eiskaltem 33 %iger HBr in Eisessig übergossen und eine Stunde bei +4 $^0$C gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abgezogen, der braune, oelige Rückstand wird noch 3 x mit abs. $Et_2O$ versetzt und einrotiert. Der verbliebene braune Kristallbrei wird anschließend in 200 ml abs. $Et_2O$ suspendiert, unter $N_2$-Schutz abfiltriert, und im Hochvakuum über KOH intensiv getrocknet.

Ausbeute: 12.65 g hellbraune, stark hygroskopische Kristalle (88.6 %) Smp. 138 - 141$^0$C

Zur Analyse wird eine Probe aus MeOH/$Et_2O$ umkristallisiert (mehrere Wochen Kristallisationszeit).

Smp. 156°C  Drehwert: $[\alpha]_D^{20°C} = +14.4^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.40; B 0.44; C 0.07

IR (KBr): 1730 $cm^{-1}$ (CO-Ester); 1725 $cm^{-1}$ (CO-Keton)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): δ[ppm] 9.72 (b, 2 H, $NH_2^+$); 4.73 (d x d, 1 H, $C_\alpha H$); 3.78 (s, 3 H, OMe); 3.75 - 2.6 (m, 6 H, $C_\beta H_2$ + $C_\delta H_2$ + $C_\varepsilon H_2$)

| $C_7H_{12}NO_3Br$ | ber. | C 35.31 | H 5.08 | N 5.88 |
|---|---|---|---|---|
| 238.09 | gef. | 35.11 | 5.12 | 5.79 |

Pic(3OBzl)-Thr-NHNH-Boc 8

14.94 g (50 mmol) Pic(3OBzl)-OH·HCl·1.5 $H_2O$ und 11.66 g (50 mmol) H-Thr-NHNH-Boc werden nach Arbeitsvorschrift I mit PPA kondensiert. Das erhaltene Rohprodukt wird aus Essigester/PE umkristallisiert.

Ausbeute: 12.97 g (58.4 %)  Smp. 160°C

Drehwert: $[\alpha]_D^{25°C} = -13.6^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.63; B 0.49; C 0.18

IR (KBr): 3390, 3360, 3290 und 3240 $cm^{-1}$ (NH- und OH-Valenz); 1732 $cm^{-1}$ (CO-Urethan); 1700 $cm^{-1}$ (CO-Urethan); 1670 $cm^{-1}$ (CO-Amid I); 1515 $cm^{-1}$ (Amid II); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): δ[ppm] 9.69 (s, 1 H, Hydrazid); 8.70 (b, 1 H, Hydrazid); 8.34 - 8.09 (m, 2 H, NH-Thr + $C_6$H-Pic(3OH)); 7.74 - 7.2 (m, 7 H, Phenyl + $C_5$H- und $C_4$H-Pic(3OH)); 5.24 (s, 2 H, Bzl-$CH_2$); 4.88 (d, 1 H, OH-Thr); 4.39 (m, 1 H, $C_\alpha$H-Thr); 4.04 (m, 1 H, $C_\beta$H-Thr); 1.39 (s, 9 H, t.-Butylgruppe); 1.13 (d, 3 H, $C_\gamma H_3$-Thr)

| $C_{22}H_{28}N_4O_6$ | ber. | C 59.45 | H 6.35 | N 12.61 |
|---|---|---|---|---|
| 444.49 | | 59.59 | 6.53 | 12.56 |

**Pic(3OBzl)-Thr[Z-Phg-]-NHNH-Boc 9**

**Allgemeine Arbeitsvorschrift:**

455 mg (1 mmol) Pic(3OBzl)-Thr-NHNH-Boc, 285 mg (1 mmol) Z-Phg-OH und, entsprechend den Einzelvorschriften, der Acylierungskatalysator DMAP werden in 10 ml $CH_2Cl_2$, sofern nicht andere Lösungsmittel angegeben sind, gelöst. Bei -15°C wird anschließend eine entsprechende Menge NMM und das Veresterungsreagenz zugetropft, bzw. fest zugegeben. Nach beendeter Zugabe wird die Reaktionslösung, sofern keine anderen Angaben erfolgen, noch 2 Stunden bei -15°C gerührt und anschließend für 2 Tage bei -2°C im Kühlschrank aufbewahrt. Nach Zugabe einiger Tropfen $H_2O$ wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand zwischen 200 ml Essigester und 50 ml Wasser verteilt. Die org. Phase wird wie üblich gewaschen und über $Na_2SO_4$ getrocknet. Das erhaltene rohe Produkt/Edukt-Gemisch wird dann säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit DMF als Laufmittel gereinigt.

Allgemeine Arbeitsvorschrift unter Voraktivierung:
285 mg (1 mmol) Z-Phg-OH und, entsprechend den Einzelvorschriften, der Acylierungskatalysator DMAP werden in 5 ml $CH_2Cl_2$, bzw. einem anderen Lösungsmittel, vorgelegt und bei -15°C eine entsprechende Menge NMM und das Veresterungsreagenz zugetropft oder fest zugegeben. Nach einer halben Stunde Aktivierungszeit bei -15°C wird eine vorgekühlte Lösung von 455 mg (1 mmol) Pic(3OBzl)-Thr-NHNH-Boc in 5 ml $CH_2Cl_2$ bzw. Pyridin zugetropft. Der weitere Verlauf der Umsetzung erfolgt wie oben beschrieben.
Ausbeute und Drehwert siehe bei den Einzelvorschriften.
DSC: $R_f$ A 0.46; B 0.38; C 0.55
IR (KBr): 3420 $cm^{-1}$ (b, NH-Valenz); 1740, 1720 - 1700 und 1690 - 1655 $cm^{-1}$ (CO-Ester, Hydrazid, Urethan und Amid I); 1500 $cm^{-1}$

(Amid II); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): δ[ppm] 9.98 (s, 1 H, Hydrazid); 8.87 (s, Hydrazidproton des L-Epimeren); 8.81 (s, Hydrazidproton des D-Epimeren); 8.50 (d, NH-Thr des L-Epimeren); 8.39 (d, NH-Thr des D-Epimeren); 8.32 - 8.18 (m, 2 H, NH-Phg + $C_6$H-Pic(3OH)); 7.7 - 7.07 (m, 17 H, 3 x Phenyl + $C_5$H- und $C_4$H-Pic(3OH)); 5.36 (d, $C_\alpha$H-Phg des L-Epimeren); 5.27 - 5.15 (m + s, $C_\alpha$H-Phg des D-Epimeren + Bzl-$CH_2$ + $C_\beta$H-Thr); 5.04 + 5.00 (2 x s, 2 H, Bzl-$CH_2$); 4.75 (m, 1 H, $C_\alpha$H-Thr); 1.39 (b, 9 H, t.-Butylgruppe); 1.25 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des D-Epimeren); 1.05 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des L-Epimeren)

Der Anteil an Pic(3OBzl)-Thr[Z-D-Phg-]-NHNH-Boc ergibt sich aus der Integration der NH-Signale des Phg, oder besser bei 100°C aus den Signalintensitäten der $C_\gamma H_3$-Gruppe des Threonins bei 1.24 ppm (d, $C_\gamma H_3$-Thr des D-Epimeren) und 1.09 ppm (d, $C_\gamma H_3$-Thr des L-Epimeren).

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{38}H_{41}N_5O_9$ | ber. | C 64.12 | H 5.81 | N 9.84 |
| 711.78 | gef. | 64.26 | 5.60 | 9.93 |

Veresterungsversuche:

1. mit Benzolsulfonsäurechlorid in Pyridin unter Voraktivierung

   Lösungsmittel: Pyridin; 0.13 ml (1 mmol) Benzolsulfonsäurechlorid

   Ausbeute: 410 mg amorphes Pulver (57.6 %)

   Drehwert: $[\alpha]_D^{20°C}$ = +1.5° (c = 1 in MeOH)

   $^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$; 100°C): δ[ppm] 1.24 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des D-Epimeren, 45 %); 1.09 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des L-Epimeren, 55 %)

2. mit N-Propylphosphonsäureanhydrid (PPA)

   0.41 ml (3.7 mmol) NMM; 0.88 g PPA (50 %ig in $CH_2Cl_2$)

Ausbeute: 427 mg amorphes Pulver (60 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +7.9^0$ (c = 1 in MeOH)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$; 100$^0$C): $\delta$[ppm] 1.24 (d, $C_\gamma H_3$-Thr D-Epimeren, 30.5 %); 1.09 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des L-Epimeren, 69.5 %)

3. mit Chlorameisensäureisobutylester unter Voraktivierung

   0.11 ml (1 mmol) NMM; 0.13 ml (1 mmol) Chlorameisensäureisobutylester

   Ausbeute: kein Produkt

4. mit 4,6-Diphenyl-thieno[3,4-d][1,3]dioxol-2-on-5,5-dioxid (TDO-Carbonat) unter Voraktivierung

   0.08 ml (1 mmol) Pyridin; 326 mg (1 mmol) TDO-Carbonat (hergestellt nach Lit. [41])

   Ausbeute: kein Produkt

5. mit N,N'-Carbonyldiimidazol (CDI) / 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) unter Voraktivierung

   122 mg (1 mmol) DMAP; 178 mg (1.1 mmol) CDI

   Ausbeute: 378 mg amorphes Pulver (53.1 %)

   Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +15.6^0$ (c = 1 in MeOH)

   $^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$; 100$^0$C): $\delta$[ppm] 1.24 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des D-Epimeren, 19 %); 1.09 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des L-Epimeren, 81 %)

6. mit Chlorameisensäureisobutylester / DMAP unter Voraktivierung

   122 mg (1 mmol) DMAP; 0.08 ml (1 mmol) Pyridin; 0.13 ml (1 mmol) Chlorameisensäureisobutylester

   Ausbeute: kein Produkt

7. mit TDO-Carbonat / DMAP unter Voraktivierung

122 mg (1 mmol) DMAP; 0.08 ml (1 mmol) Pyridin; 326 mg (1 mmol) TDO-Carbonat

Ausbeute: 330 mg amorphes Pulver (46.4 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +11.6^0$ (c = 1 in MeOH)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$; 100$^0$C): $\delta$[ppm] 1.24 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des D-Epimeren, 25 %); 1.09 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des L-Epimeren, 75 %)

8. mit PPA / DMAP

122 mg (1 mmol) DMAP; 0.41 ml (3.6 mmol) NMM; 0.88 g PPA (50 %ig in $CH_2Cl_2$)

Ausbeute: 520 mg amorphes Pulver (73.1 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +20.9^0$ (c = 1 in MeOH)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$; 100$^0$C): $\delta$[ppm] 1.24 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des D-Epimeren, 7 %); 1.09 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des L-Epimeren, 93 %)

9. mit N,N-Bis[2-oxo-3-oxazolidinyl]phosphorsäurechloriddiamid (BOP-Cl) / DMAP

122 mg (1 mmol) DMAP; 0.22 (2 mmol) NMM; 254 mg (1 mmol) BOP-Cl (hergestellt nach Lit. [52])

Ausbeute: 178 mg amorphes Pulver (25 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +17.7^0$ (c = 1 in MeOH)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$; 100$^0$C): $\delta$[ppm] 1.24 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des D-Epimeren, 15 %); 1.09 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des L-Epimeren, 85 %)

10. mit N-Ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimidhydrochlorid (EDCI) / DMAP

122 mg (1 mmol) DMAP; 0.13 ml (1.2 mmol) NMM; 230 mg (1.2 mmol) EDCI

Ausbeute: 441 mg amorphes Pulver (62 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +16.8^0$ (c = 1 in MeOH)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$; 100$^0$C): $\delta$[ppm] 1.24 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des D-Epimeren, 15 %); 1.09 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des L-Epimeren, 85 %)

11. mit Trisdimethylaminophosphan / Hexachlorethan / DMAP

122 mg (1 mmol) DMAP; 0.22 ml (2 mmol) NMM; 1 mmol Veresterungsreagenz aus Trisdimethylaminophosphan und Hexachlorethan in $CH_2Cl_2$ (Herstellung siehe Arbeitsvorschrift III)

Ausbeute: 520 mg amorphes Pulver (73 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +19.1^0$ (c = 1 in MeOH)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$; 100$^0$C): $\delta$[ppm] 1.24 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des D-Epimeren, 9 %); 1.09 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des L-Epimeren, 91 %)

12. mit PPA / DMAP in Pyridin

Lösungsmittel Pyridin; 122 mg (1 mmol) DMAP; 0.88 g PPA (50 %ig in $CH_2Cl_2$)

Ausbeute: 490 mg amorphes Pulver (68.8 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +16.6^0$ (c = 1 in MeOH)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$; 100$^0$C): $\delta$[ppm] 1.24 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des D-Epimeren, 16.5 %); 1.09 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des L-Epimeren, 83.5 %)

13. mit PPA / DMAP bei -20$^0$C

122 mg (1 mmol) DMAP; 0.41 ml (3.6 mmol) NMM; 0.88 g PPA (50 %ig in $CH_2Cl_2$); Reaktionsbedingungen: 4 Tage bei -20$^0$C

Ausbeute: 370 mg amorphes Pulver (52 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +16.4^0$ (c = 1 in MeOH)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$; 100$^0$C): $\delta$ [ppm] 1.24 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des D-Epimeren, 13 %); 1.09 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des L-Epimeren, 87 %)

14. mit CDI / DMAP bei -20$^0$C unter Voraktivierung

122 mg (1 mmol) DMAP; 178 mg (1.1 mmol) CDI; Reaktionsbedingungen: 4 Tage bei -20$^0$C

Ausbeute: 230 mg amorphes Pulver (32.2 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C}$ = +21.7$^0$ (c = 1 in MeOH)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$; 100$^0$C): $\delta$ [ppm] 1.24 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des D-Epimeren, 7.5 %); 1.09 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des L-Epimeren, 92.5 %) 92.5 %)

15. mit EDCI / DMAP (0.1 eq.)

12.2 mg (0.1 mmol) DMAP; 230 mg (1.2 mmol) EDCI

Ausbeute: 370 mg amorphes Pulver (52 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C}$ = +13.9$^0$ (c = 1 in MeOH)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$; 100$^0$C): $\delta$ [ppm] 1.24 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des D-Epimeren, 19 %); 1.09 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des L-Epimeren, 81 %)

16. mit PPA / DMAP (0.1 eq.)

12.2 mg (0.1 mmol) DMAP; 0.41 ml (3.6 mmol) NMM; 0.88 g PPA (50 %ig in $CH_2Cl_2$)

Ausbeute: 280 mg amorphes Pulver (39.3 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C}$ = +18.3$^0$ (c = 1 in MeOH)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$; 100$^0$C): $\delta$ [ppm] 1.24 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des D-Epimeren, 11 %); 1.09 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des L-Epimeren, 89%)

17. mit Trisdimethylaminophosphan / Hexachlorethan / DMAP (0.1 eq.)

12.2 mg (0.1 mmol) DMAP; 0.22 ml (2 mmol) NMM; 1 mmol

Veresterungsreagenz aus Trisdimethylaminophosphan und Hexachlorethan in $CH_2Cl_2$ (siehe Arbeitsvorschrift III)

Ausbeute: 170 mg amorphes Pulver (23.9 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +16.3^0$ (c = 1 in MeOH)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$; 100$^0$C): $\delta$[ppm] 1.24 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des D-Epimeren, 15 %); 1.09 (d, $C_\gamma H_3$-Thr des L-Epimeren, 85 %)

Pic(3OBzl)-Thr-OMe 10

a) durch Aktivesterkupplung

848 mg (5 mmol) H-Thr-OMe·HCl und 0.7 ml (5 mmol) $Et_3N$ werden in 50 ml DMF bei +4$^0$C tropfenweise mit einer Lösung von 1.75 g (5 mmol) Pic(3OBzl)-ONp in 25 ml DMF versetzt. Nach beendeter Zugabe wird noch 40 Stunden bei RT gerührt und das Lösungsmittel anschließend am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird zwischen 200 ml Essigester und 50 ml Wasser verteilt, wie üblich gewaschen und über $Na_2SO_4$ getrocknet. Nach Abzug des Lösungsmittels wird der Rückstand aus Essigester/PE umkristallisiert.

Ausbeute: 0.15 g (8.7 %) Smp. 105$^0$C

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +0.97^0$ (c = 1 in MeOH)

b) durch Peptidkupplung mit EDCI

5.85 g (20 mmol) Pic(3OBzl)-OH·HCl·1.5$H_2O$ und 3.39 g (20 mmol) H-Thr-OMe·HCl werden nach Arbeitsvorschrift II mit EDCI kondensiert. Das erhaltene Rohprodukt wird aus Essigester/PE umkristallisiert.

Ausbeute: 5.43 g (78.8 %) Smp. 107$^0$C

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +1.01^0$ (c = 1 in MeOH)

c) durch Peptidkupplung mit PPA

5.85 g (20 mmol) Pic(3OBzl)-OH·HCl·1.5 $H_2O$ und 3.39 g (20 mmol)

H-Thr-OMe·HCl werden nach Arbeitsvorschrift I mit PPA gekuppelt. Das erhaltene Rohprodukt wird aus Essigester/PE umkristallisiert.

Ausbeute: 5.13 g (74.5 %) Smp. 107°C

Drehwert: $[\alpha]_D^{20°C}$ = +0.92° (c = 1 in MeOH)

d) durch Peptidkupplung mit $(Me_2N)_3P$ / $C_2Cl_6$ / HOBt

2.93 g (10 mmol) Pic(3OBzl)-OH·HCl·1.5$H_2O$ und 1.70 g (10 mmol) H-Thr-OMe·HCl werden nach Arbeitsvorschrift III mit Trisdimethylaminophosphan / Hexachlorethan / HOBt kondensiert. Das erhaltene Rohprodukt wird aus Essigester/PE umkristallisiert.

Ausbeute: 2.24 g (65 %) Smp. 103°C

Drehwert: $[\alpha]_D^{20°C}$ = +0.95° (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.62; B 0.40; C 0.76

IR (KBr): 3400 $cm^{-1}$ (OH-Valenz); 3350 $cm^{-1}$ (NH-Valenz); 1755 $cm^{-1}$ (CO-Ester); 1655 $cm^{-1}$ (Amid I); 1525 $cm^{-1}$ (Amid II)

$^1$H-NMR (90 MHz; DMSO-$d_6$): δ[ppm] 8.41 (d, 1 H, NH-Thr); 8.24 (m, 1 H, $C_6$H-Pic(3OH)); 7.77 - 7.24 (m, 7 H, Phenyl + $C_5$H- und $C_4$H-Pic(3OH)); 5.25 (s, 2 H, Bzl-$CH_2$); 5.14 (d, 1 H, OH-Thr); 4.52 (d x d, 1 H, $C_\alpha$H-Thr); 4.19 (m, 1 H, $C_\beta$H-Thr); 3.66 (s, 3 H, OMe); 1.12 (d, 3 H, $C_\gamma H_3$-Thr)

| $C_{18}H_{20}N_2O_5$ | ber. | C 62.78 | H 5.85 | N 8.14 |
|---|---|---|---|---|
| 344.37 | gef. | 62.79 | 6.04 | 8.18 |

Pic(3OBzl)-Thr-$N_2H_3$ [11]

6.89 g (20 mmol) Pic(3OBzl)-Thr-OMe werden in 50 ml MeOH gelöst, mit 19.4 ml (0.4 mol) Hydrazinhydrat versetzt, 3 Stunden bei +40°C und 2 Tage bei RT gerührt. Nach Abzug von Lösungsmittel und überschüssigem Hydrazin wird der Rückstand aus MeOH/$Et_2O$ umkristallisiert.

Ausbeute: 5.71 g (83 %) Smp. 142°C

Drehwert: $[\alpha]_D^{20°C}$ = +23.4° (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.39; B 0.32; C 0.10

IR (KBr): 3280 $cm^{-1}$ (b, NH- und OH-Valenz); 1660 $cm^{-1}$ (CO-Hydrazid und Amid I); 1500 $cm^{-1}$ (Amid II)

$^1$H-NMR (90 MHz; DMSO-$d_6$): δ[ppm] 9.09 (s, 1 H, Hydrazid); 8.27 - 8.04 (m, 2 H, NH-Thr + $C_6$H-Pic(3OH)); 7.69 - 7.16 (m, 7 H, $C_5$H- und $C_4$H-Pic(3OH) + Phenyl); 5.25 (s, 2 H, Bzl-$CH_2$); 4.94 (d, 1 H, OH-Thr); 4.44 - 3.87 (m, 4 H, $C_\alpha$H- und $C_\beta$H-Thr + $NH_2$-Hydrazid); 1.07 (d, 3 H, $C_\gamma H_3$-Thr)

| $C_{17}H_{20}N_4O_4$ | ber. | C 59.29 | H 5.85 | N 16.27 |
|---|---|---|---|---|
| 344.37 | gef. | 59.30 | 6.06 | 16.01 |

Z-D-Abu-Pro-OBu$^t$ 12

a) durch Peptidkupplung mit PPA

10.68 g (45 mmol) Z-D-Abu-OH und 7.70 g (45 mmol) H-Pro-OBu$^t$ werden nach Arbeitsvorschrift I mit PPA gekuppelt. Das verbliebene Oel wird an der Oelpumpe scharf getrocknet.

Ausbeute: 17.58 g Oel (quant.)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20°C}$ = -33.4° (c = 1 in MeOH)

b) durch Peptidkupplung mit EDCI

2.37 g (10 mmol) Z-D-Abu-OH und 1.71 g (10 mmol) H-Pro-OBu$^t$ werden nach Arbeitsvorschrift II mit EDCI / HOBt kondensiert.

Ausbeute: 3.90 g Oel (quant.)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20°C}$ = -33.2° (c =1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.86; B 0.72; C 0.89

IR (NaCl): 3400 und 3280 $cm^{-1}$ (b, NH-Valenz); 1720 $cm^{-1}$ (CO-Ester und Urethan); 1640 $cm^{-1}$ (b, Amid I); 1525 $cm^{-1}$ (b, Amid II);

1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; $DMSO_3$): δ[ppm] 7.36 - 7.28 (m, 5 H, Phenyl); 5.66 (d, 0.7 H, NH-Abu); 5.50 (d, 0.3 H, NH-Abu); 5.14 - 5.02 (m, 2 H, Bzl-$CH_2$); 4.75 (d x d, 0.3 H, $C_\alpha$H-Pro); 4.55 - 4.47 (m, 0.7 H, $C_\alpha$H-Abu); 4.34 - 4.29 (m, 0.7 H, $C_\alpha$H-Pro); 4.20 - 4.16 (m, 0.3 H, $C_\alpha$H-Abu); 3.83 - 3.78 und 3.62 - 3.51 (2 x m, 2 H, $C_\delta H_2$-Pro); 2.21 - 1.50 (m, 6 H, $C_\beta H_2$- und $C_\gamma H_2$-Pro + $C_\beta H_2$-Abu); 1.48 und 1.43 (2 x s, 9 H, t.-Butylgruppe); 0.925 (t, 3 H, $C_\gamma H_3$-Abu)

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{21}H_{30}N_2O_5$ | ber. | C 64.60 | H 7.74 | N 7.17 |
| 390.48 | gef. | 64.36 | 7.81 | 6.96 |

H-D-Abu-Pro-$OBu^t$·TsOH 13

17.58 g (45 mmol) Z-D-Abu-Pro-$OBu^t$ und 8.55 g (45 mmol) TsOH·$H_2O$ werden in 150 ml MeOH gelöst, mit 1.2 g Pd/C-Katalysator (5 %ig) versetzt und 12 Stunden bei RT und Atmosphärendruck hydriert. Nach Abfiltration des Katalysators und Abzug des Lösungsmittels wird das verbliebene Oel in 300 ml siedendem $Et_2O$ gelöst und zur Kristallisation über Nacht bei RT stehen gelassen.

Ausbeute: 18.52 g (96 %) Smp. 114°C

Drehwert: $[\alpha]_D^{20°C}$ = -56.8° (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.33; B 0.29; C 0.05

IR (KBr): 3440 $cm^{-1}$ (b, NH-Valenz); 1725 $cm^{-1}$ (CO-Ester); 1655 $cm^{-1}$ (CO-Amid); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): δ[ppm] 8.15 (b, 3 H, $NH_3^+$); 7.50 und 7.13 (2 x d, 4 H, Aromatenprotonen der TsOH); 4.26 - 4.00 (m, 2 H, $C_\alpha$H-Pro + $C_\alpha$H-Abu); 3.75 - 3.38 (m, 2 H, $C_\delta H_2$-Pro); 2.29 (s, 3 H, $CH_3$-TsOH); 2.2 - 1.5 (m, 6 H, $C_\beta H_2$- und $C_\gamma H_2$-Pro + $C_\beta H_2$-Abu); 1.40 und 1.42 (2 x s, 9 H, t.-Butylgruppe); 0.89

(t, 3 H, $C_\gamma H_3$-Abu)

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{20}H_{32}N_2O_6S$ | ber. | C 56.05 | H 7.53 | N 6.54 |
| 428.55 | gef. | 55.83 | 7.71 | 6.45 |

Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-$OBu^t$ 14

a) 2 + 2 -Kondensation durch Azidkupplung nach Medzihradszky

2.15 g (6.23 mmol) Pic(3OBzl)-Thr-$N_2H_3$ werden in 50 ml DMF gelöst und bei -20°C tropfenweise mit 4.1 ml (50 mmol) konz. HCl versetzt. Anschließend werden langsam 4.6 ml (9.35 mmol) einer 14 %igen wässrigen $NaNO_2$-Lösung zugegeben und die Reaktionslösung 1.5 Stunden bei -20°C gerührt. Zur Beseitigung von überschüssigem HCl werden 5.8 ml (52.6 mmol) NMM zugegeben und dann eine Lösung von 3.86 g (9 mmol) H-D-Abu-Pro-$OBu^t$·TsOH in 20 ml DMF zugetropft. Es wird eine halbe Stunde bei -20°C und 16 Stunden bei RT gerührt. Nach Abzug des Lösungsmittels wird der Rückstand zwischen 200 ml Essigester und 50 ml $H_2O$ verteilt, wie üblich gewaschen und über $Na_2SO_4$ getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit DMF als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 1.15 g Schaum (32.3 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{25°C} = -15.2^0$ (c = 1 in MeOH)

Bei der säulenchromatographischen Reinigung läßt sich eine zweite Substanz als Nachläufer isolieren, die aus MeOH umkristallisiert wird.

Ausbeute: 591 mg (4r,5r)-4-(3-Benzyloxypicolinsäureamidyl)-5-methyl-oxazolid-2-on 14b

b) 2 + 2-Kondensation durch Azidkupplung nach Honzl-Rudinger

2.41 g (7 mmol) Pic(3OBzl)-Thr-$N_2H_3$ werden in 25 ml DMF gelöst und bei -20°C tropfenweise mit 4.7 ml 4 N HCl in Dioxan (19 mmol)

versetzt. Nun werden bei -15°C 1.2 ml (9 mmol) Amylnitrit zugetropft. Nach einer Stunde Reaktionszeit wird bei -15°C eine Lösung von 2.14 g (5 mmol) H-D-Abu-Pro-$OBu^t$·TsOH in 80 ml DMF zugetropft und anschließend 4.2 ml (24 mmol) N-Ethyldiisopropylamin. Nach dem Auftauen auf RT (ca. 4 Stunden) wird die Reaktionslösung noch 12 Stunden bei RT gerührt. Die Reinigung erfolgt wie unter a) beschrieben.

Ausbeute: 1.17 g Schaum (41.1 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{25°C} = -15.1^0$ (c = 1 in MeOH)

Auch in dieser Variante der Azidkupplung ergibt sich dasselbe Nebenprodukt.

Ausbeute: 1.25 g Substanz 14b Smp. 149°C

c) 2 + 2 -Kondensation mit PPA

1.65 g (5 mmol) Pic(3OBzl)-Thr-OH und 2.14 (5 mmol) H-D-Abu-Pro-$OBu^t$·TsOH werden nach Arbeitsvorschrift I mit PPA gekuppelt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit DMF als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 355 mg Schaum (12.5 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{25°C} = -14.4^0$ (c = 1 in MeOH)

d) 2 + 2 -Kondensation mit $(Me_2N)_3P$ / $C_2Cl_6$ / HOBt

Ansatzgröße und Reinigung wie unter c), jedoch nach Arbeitsvorschrift III mit $(Me_2N)_3P$ / $C_2Cl_6$ / HOBt als Kondensationsreagenz.

Ausbeute: 1.2 g Schaum (42.2 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{25°C} = -14.9^0$ (c = 1 in MeOH)

e) 2 + 2 -Kondensation mit DCC / HOBt

Ansatzgröße und Reinigung wie unter c), jedoch nach Arbeitsvorschrift II mit DCC / HOBt als Kondensationsreagenz.

Ausbeute: 1.59 g Schaum (55.8 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{25^0C} = -15.4^0$ (c = 1 in MeOH)

f) 2 + 2 -Kondensation mit EDCI / HOBt

Ansatzgröße und Reinigung wie unter c), jedoch nach Arbeitsvorschrift II mit EDCI / HOBt als Kupplungsreagenz.

Ausbeute: 1.63 g Schaum (57.2 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{25^0C} = -15.1^0$ (c = 1 in MeOH)

g) 1 + 3 -Kondensation mit EDCI / HOBt

2.34 g (8 mmol) Pic(3OBzl)-OH·HCl·1.5$H_2O$ und 4.28 g (8 mmol) H-Thr-D-Abu-Pro-$OBu^t$·TsOH werden nach Arbeitsvorschrift II mit EDCI / HOBt gekuppelt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit DMF als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 4.0 g Schaum (87.9 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{25^0C} = -15.2^0$ (c = 1 in MeOH)

h) 1 + 3 -Kondensation mit EDCI / HOBt und kurzer Reaktionszeit

1.46 g (5 mmol) Pic(3OBzl)-OH·HCl·1.5$H_2O$ und 2.65 g (5 mmol) H-Thr-D-Abu-Pro-$OBu^t$·TsOH werden nach Arbeitsvorschrift II unter verkürzter Reaktionszeit (2 Stunden -15$^0$C bis 0$^0$C und 2 Stunden RT) gekuppelt. Nach dem Auswaschen wird das Produkt direkt in analysenreiner Form erhalten.

Ausbeute: 2.55 g Schaum (89.7 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{25^0C} = -15.0^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.65; B 0.39; C 0.44

IR (KBr): 3370 $cm^{-1}$ (b, NH- und OH-Valenz); 1730 $cm^{-1}$ (CO-Ester); 1650 $cm^{-1}$ (Amid I); 1500 $cm^{-1}$ (Amid II); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): 8.33 - 8.2 (m, 2 H, NH-Thr + $C_6$H-Pic(3OH)); 8.03 (d, 1 H, NH-Abu); 7.73 - 7.28 (m, 7 H, Phenyl +

$C_5H$- und $C_4H$-Pic(3OH)); 5.25 (s, 2 H, Bzl-$CH_2$); 5.92 (2 x d, 1 H, OH-Thr); 4.80 (d x d, 0.4 H, $C_\alpha H$-Pro); 4.61 - 4.43 (m, 2 H, $C_\alpha H$-Thr + $C_\alpha H$-Abu); 4.22 - 4.03 (m, 1.6 H, $C_\beta H$-Thr + $C_\alpha H$-Pro); 3.74 - 3.30 (m, 2 H, $C_\delta H_2$-Pro); 2.26 - 1.60 (m, 6 H, $C_\beta H_2$- und $C_\gamma H_2$-Pro + $C_\beta H_2$-Abu); 1.43 und 1.30 (2 x s, 9 H, t.-Butylgruppe); 1.06 (d, 3 H, $C_\gamma H_3$-Thr); 0.85 und 0.81 (2 x t, 3 H, $C_\gamma H_3$-Abu)

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{30}H_{40}N_4O_7$ | ber. | C 63.36 | H 7.09 | N 9.85 |
| 568.67 | gef. | 63.23 | 7.31 | 9.73 |

Analytische Daten der Verbindung 14b:

DSC: $R_f$ A 0.69; B 0.44; C 0.23

IR (KBr): 3290 $cm^{-1}$ (b, NH-Valenz); 1745 und 1730 $cm^{-1}$ (CO-Urethan); 1650 $cm^{-1}$ (Amid I); 1500 $cm^{-1}$ (Amid II)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$[ppm] 9.02 (d, 1 H, J = 8.8 Hz, NH); 8.17 (d, 1 H, $C_6H$-Pic(3OH)); 7.64 - 7.29 (m, 8 H, $C_5H$- und $C_4H$-Pic(3OH) + NH + Phenyl); 5.72 (d x d, 1 H, J = 8.8 Hz, J' = 7 Hz, $C_4H$-Oxazolidon-(2)); 5.20 (s, 2 H, Bzl-$CH_2$); 4.78 (d x q, 1 H, J = 6.3 Hz, J' = 7 Hz, $C_5H$-Oxazolidon-(2)); 1.16 (d, 3 H, J = 6.3 Hz, $CH_3$)

MS (70 eV; 140°C): m/z = 327 ($M^+$)

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{17}H_{17}N_3O_4$ | ber. | C 62.38 | H 5.23 | N 12.84 |
| 327.34 | gef. | 62.52 | 5.54 | 12.72 |

Pic(3OBzl)-Thr-OH 15

8.61 g (25 mmol) Pic(3OBzl)-Thr-OMe werden in 100 ml EtOH gelöst, tropfenweise mit 27.5 ml 1 N NaOH versetzt und 4 Stunden bei RT gerührt. Nach Abzug des Lösungsmittels wird der Rückstand in 500 ml Eiswasser aufgenommen, mit 100 ml $Et_2O$ gewaschen, und die Lösung mit 1 N HCl vorsichtig auf pH 4 angesäuert. Nach einigen Tagen ist das Produkt vollständig auskristallisiert.

Ausbeute: 8.24 g Nadeln (99.8 %) Smp. 158 - 160°C

Drehwert: $[\alpha]_D^{25°C}$ = +13.0° (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.25; B 0.30; C 0.14

IR (KBr): 3420 $cm^{-1}$ (NH-Valenz); 3340 $cm^{-1}$ (OH-Valenz); 2900 $cm^{-1}$ (b, COOH); 1740 $cm^{-1}$ (CO-Säure); 1685 $cm^{-1}$ (Amid I); 1510 $cm^{-1}$ (Amid II)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): δ[ppm] 8.47 (d, 1 H, NH-Thr); 8.29 (d, 1 H, $C_6$H-Pic(3OH)); 7.98 - 7.27 (m, 7 H, $C_5$H- und $C_4$H-Pic(3OH) + Phenyl); 5.34 (s, 2 H, Bzl-$CH_2$); 4.42 (d x d, 1 H, $C_\alpha$H-Thr); 4.24 (m, 1 H, $C_\beta$H-Thr); 1.10 (d, 3 H, $C_\gamma H_3$-Thr)

| $C_{17}H_{18}N_2O_5$ | ber. | C 61.81 | H 5.49 | N 8.48 |
|---|---|---|---|---|
| 330.34 | gef. | 61.92 | 5.27 | 8.62 |

Fmoc-Phg-OH 16

7.56 g (50 mmol) Phenylglycin werden in 100 ml 10 %iger $Na_2CO_3$-Lösung suspendiert und bei +4°C tropfenweise mit einer Lösung von 13 g (50.2 mmol) Chlorameisensäure-(9-fluorenylmethyl)-ester (hergestellt nach Lit. [28]) in 50 ml Dioxan versetzt. Nach beendeter Zugabe wird noch 2 Stunden bei +4°C und 4 Stunden bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wird in 1.5 l Eiswasser gegossen, mit 300 ml $Et_2O$ gewaschen und mit konz. HCl auf pH 2 - 3 angesäuert. Die wässrige Suspension wird unter NaCl-Sättigung mit 4 x 200 ml Essigester extrahiert und die vereinigten org. Phasen über $Na_2SO_4$ getrocknet. Nach Abzug des Lösungsmittels wird der oelige Rückstand aus Essigester/PE auskristallisiert.

Ausbeute: 16.8 g (90 %) Smp. 169°C

Drehwert: $[\alpha]_D^{25°C}$ = +91.7° (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.55; B 0.74; C 0.52

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): δ[ppm] 12.90 (b, 1 H, COOH); 8.25 (d,

1 H, NH); 8.25 - 7.29 (m, 13 H, Phenyl + 8 Aromatenprotonen Fmoc); 5.19 (d, 1 H, $C_\alpha H$); 4.31 - 4.22 (m, 3 H, CH-$CH_2$-Fmoc)

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{23}H_{19}NO_4$ | ber. | C 73.98 | H 5.13 | N 3.75 |
| 373.41 | gef. | 73.74 | 5.10 | 4.01 |

Pic(3OBzl)-Thr[Fmoc-Phg-]-NHNH-Boc 17

2.80 g (7.5 mmol) Fmoc-Phg-OH und 2.22 g (5 mmol) Pic(3OBzl)-Thr-NHNH-Boc werden nach Arbeitsvorschrift IV durch PPA / DMAP miteinander verestert. Das rohe Substanzgemisch wird über Sephadex LH 20 mit MeOH als Laufmittel aufgetrennt.

Ausbeute: 3.65 amorphes Pulver (91.3 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +22.7^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.84; B 0.66; C 0.37

IR (KBr): 3350 $cm^{-1}$ (b, NH-Valenz); 1740 - 1670 $cm^{-1}$ (CO-Ester, Urethan und Amid I); 1500 $cm^{-1}$ (Amid II); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$ [ppm] 10.00 (s, 1 H, NH-Hydrazid); 8.89 (s, 1 H, NH-Hydrazid); 8.50 (d, 1 H, NH-Thr); 8.34 (d, 1 H, NH-Phg); 8.31 - 7.27 (m, 21 H, 2 x Phenyl + 3 Aromatenprotonen Pic(3OH) + 8 Aromatenprotonen Fmoc); 5.36 (d, 1 H, $C_\alpha$H-Phg); 5.28 - 5.12 (m + s, 3 H, Bzl-$CH_2$ + $C_\beta$H-Thr); 4.77 (d x d, 1 H, $C_\alpha$H-Thr); 4.30 - 4.13 (m, 3 H, CH-$CH_2$-Fmoc); 1.38 (s, 9 H, t.-Butylgruppe); 1.08 (d, 3 H, $C_\gamma H_3$-Thr)

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{45}H_{45}N_5O_9$ | ber. | C 67.57 | H 5.67 | N 8.76 |
| 799.89 | gef. | 67.52 | 5.62 | 8.59 |

Pic(3OBzl)-Thr[Fmoc-Phg-]-$N_2H_3$·2xHCl 18

2.40 g (3 mmol) Pic(3OBzl)-Thr[Fmoc-Phg-]-NHNH-Boc werden in 4 ml Dioxan gelöst, mit 2.5 ml 6 N HCl in Dioxan (15 mmol) versetzt

und 3 Stunden bei RT gerührt. Nach Abzug des Lösungsmittels wird der verbliebene gelbe Schaum in 50 ml warmem $Et_2O$ digeriert und abfiltriert. Das erhaltene amorphe Pulver wird an der Oelpumpe scharf getrocknet.

Ausbeute: 2.17 g amorphes Pulver (80.6 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +39.1^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.68; B 0.46; C 0.15

IR (KBr): 3370 $cm^{-1}$ (b, NH-Valenz); 1740 $cm^{-1}$ (CO-Ester); 1715 - 1685 $cm^{-1}$ (CO-Urethan und Amid I)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$[ppm] 8.72 (d, 1 H, NH-Thr); 8.43 (d, 1 H, NH-Phg); 8.24 (d, 1 H, $C_6$H-Pic(3OH)); 7.92 - 7.22 (m, 25 H, 2 x Phenyl + $C_5$H- und $C_4$H-Pic(3OH) + 8 Aromatenprotonen Fmoc + $NH^+$-Pyridin + $N_2H_4^+$-Hydrazid); 5.38 - 5.16 (m, 4 H, $C_\alpha$H-Phg + Bzl-$CH_2$ + $C_\beta$H-Thr); 4.92 (d x d, 1 H, $C_\alpha$H-Thr); 4.31 - 4.12 (m, 3 H, CH-$CH_2$-Fmoc); 1.00 (d, 3 H, $C_\gamma H_3$-Thr)

Pic(3OBzl)-Thr[Fmoc-Phg-]-D-Abu-Pro-$OBu^t$ 19

a) 3 + 2 -Kondensation durch Azidkupplung nach Honzl-Rudinger

1.88 g (2.1 mmol) Pic(3OBzl)-Thr[Fmoc-Phg-]-$N_2H_3$·2xHCl werden in 10 ml DMF gelöst und bei -15$^0$C nacheinander tropfenweise mit 1.06 ml 6.5 N HCl in Dioxan (6.9 mmol) und 0.5 ml (3.78 mmol) Amylnitrit versetzt. Nach einer Stunde Reaktionszeit bei -15$^0$C wird eine Lösung von 643 mg (1.5 mmol) H-D-Abu-Pro-$OBu^t$·TsOH in 30 ml DMF zugetropft und anschließend langsam 2.2 ml (12.6 mmol) N-Ethyldiisopropylamin zugegeben. Nach dem Auftauen auf RT (ca. 4 Stunden) wird die Reaktionslösung noch 36 Stunden bei RT gerührt. Nach Abzug des Lösungsmittels wird der Rückstand zwischen 200 ml Essigester und 50 ml Wasser verteilt, wie üblich gewaschen und

über $Na_2SO_4$ getrocknet. Das erhaltene Produktgemisch wird säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit MeOH als Laufmittel gereinigt. Neben der Produktfraktion ergibt die Trennung 2 weitere Fraktionen, die 650 mg (43 %) Pic(3OBzl)-Thr[Fmoc-Phg-]-OH und 70 mg (9 %) Fmoc-Phg-OH enthalten.

Ausbeute: 330 mg Schaum (24 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +22.5^0$ (c = 1 in MeOH)

b) 3 + 2 -Kondensation mit PPA

1.44 g (2 mmol) Pic(3OBzl)-Thr[Fmoc-Phg-]-OH·HCl und 857 mg (2 mmol) H-D-Abu-Pro-$OBu^t$·TsOH werden nach Arbeitsvorschrift I kondensiert. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit MeOH als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 720 mg Schaum (39 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +22.8^0$ (c = 1 in MeOH)

c) durch Veresterung mit PPA / DMAP

2.24 g (6 mmol) Fmoc-Phg-OH und 2.27 g (4 mmol) Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-$OBu^t$ werden nach Arbeitsvorschrift IV durch PPA / DMAP miteinander verestert. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit MeOH als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 3.42 g amorphes Pulver (92.5 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +25.7^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.78; B 0.58; C 0.44

IR (KBr): 3380 $cm^{-1}$ (b, NH-Valenz); 1730 $cm^{-1}$ (b, CO-Ester und Urethan); 1650 $cm^{-1}$ (Amid I); 1500 $cm^{-1}$ (Amid II); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$ [ppm] 8.7 - 8.15 (m, 4 H, NH-Thr + NH-Phg + NH-Abu + $C_6$H-Pic(3OH)); 7.9 - 7.2 (m, 20 H, 2 x Phenyl

+ $C_5H$- und $C_4H$-Pic(3OH) + 8 Aromatenprotonen Fmoc); 5.35 - 5.10 (m, 4 H, $C_\alpha H$-Phg + $C_\beta H$-Thr + Bzl-$CH_2$); 4.93 - 4.04 (m, 6 H, $C_\alpha H$-Pro + $C_\alpha H$-Thr + $C_\alpha H$-Abu + CH-$CH_2$-Fmoc); 3.78 - 3.32 (m, 2 H, $C_\delta H_2$-Pro); 2.3 - 1.2 (m, 15 H, $C_\gamma H_2$- und $C_\beta H_2$-Pro + $C_\beta H_2$-Abu + t.-Butylgruppe); 1.03 - 0.92 (m, 3 H, $C_\gamma H_3$-Thr); 0.72 - 0.70 (m, 3 H, $C_\gamma H_3$-Abu)

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{53}H_{57}N_5O_{10}$ | ber. | C 68.89 | H 6.22 | N 7.58 |
| 924.07 | gef. | 68.81 | 6.41 | 7.53 |

Z-Thr-OBu$^t$; Z-Thr(Bu$^t$)-OBu$^t$ [59] [20]

19 g (75 mmol) Z-Thr-OH werden in 750 ml $CH_2Cl_2$ gelöst. Durch die erhaltene Lösung wird ein mäßiger Strom Isobutylen durchgeleitet und langsam 3 ml konz. $H_2SO_4$ zugetropft. Nach 2 Stunden wird die Reaktion abgebrochen. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abgezogen, der Rückstand in 600 ml Essigester aufgenommen, mit 3 x 200 ml 10 %iger $NaHCO_3$-Lösung, 1 x 100 ml ges. NaCl-Lösung, 1 x 200 ml 1 N HCl, 1 x 200 ml Wasser und 1 x 200 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen und über $Na_2SO_4$ getrocknet. Nach Abzug des Lösungsmittels wird der Rückstand an der Oelpumpe scharf getrocknet.

Ausbeute: 7.73 - 11.34 g Oel (25 - 30 % Z-Thr-OBu$^t$ + 7 - 16 % Z-Thr(Bu$^t$)-OBu$^t$) +

DSC: $R_f$ A 0.89; B 0.77; C 0.74

IR (NaCl): 3430 und 3350 $cm^{-1}$ (b, OH- und NH-Valenz); 1720 $cm^{-1}$ (CO-Ester und Urethan); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

+ Die Zusammensetzung des Produktgemisches ergibt sich im NMR-Spektrum aus den Signalintensitäten der t.-Butylsignale des Esters im Vergleich zum Ether.

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$ [ppm] 7.45 - 7.28 (m, 5 H, Phenyl); 7.05 und 6.85 (2 x d, 1 H, NH); 5.07 (s, 2 H, Bzl-$CH_2$); 4.68 (d, 0.6 - 0.8 H, OH); 4.10 - 3.86 (m, 2 H, $C_\alpha H$ und $C_\beta H$); 1.40 und 1.35 (2 x s, 9 H, t.-Butylgruppe des Esters); 1.14 - 1.07 (m, 5 - 6.15 H, $C_\gamma H_3$ + t.-Butylgruppe des Ethers)

H-Thr-$OBu^t \cdot H_3PO_3$ [59] **21**

9.79 g eines Gemisches aus 21 mmol Z-Thr-$OBu^t$ und 9 mmol Z-Thr($Bu^t$)-$OBu^t$ werden in 300 ml MeOH suspendiert, mit 0.6 g Pd/C-Katalysator (5 %ig) versetzt und 12 Stunden bei RT und Atmosphärendruck hydriert. Nach Abfiltration des Katalysators und Zugabe von 2.4 g (30 mmol) $H_3PO_3$ wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen und der oelige Rückstand vorsichtig aus $Et_2O$/n-Hexan auskristallisiert.

Ausbeute: 2.92 g (54 %) Smp. 129°C (Lit [59]: 140°C)

DSC: $R_f$ A 0.11; B 0.26; C 0.03

IR (KBr): 2400 $cm^{-1}$ (P-H); 1750 $cm^{-1}$ (CO-Ester); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$ [ppm] 7.50 (b, 5 H, saure Protonen); 3.99 (m, 1 H, $C_\beta H$); 3.55 (d, 1 H, $C_\alpha H$); 1.44 (s, 9 H, t.-Butylgruppe); 1.19 (d, 3 H, $C_\gamma H_3$)

Pic(3OBzl)-Thr-$OBu^t$ **22**

4.38 g (15 mmol) Pic(3OBzl)-OH·HCl·1.5$H_2O$ und 2.63 g (15 mmol) H-Thr-$OBu^t$ werden nach Arbeitsvorschrift I mit PPA kondensiert. Das oelige Rohprodukt wird an der Oelpumpe zum Schaum getrocknet.

Ausbeute: 4.23 g Schaum (76.1 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20°C} = -9.7°$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.77; B 0.52; C 0.46

IR (NaCl): 3380 $cm^{-1}$ (b, NH- und OH-Valenz); 1730 $cm^{-1}$ (CO-Ester); 1615 $cm^{-1}$ (Amid I); 1510 $cm^{-1}$ (Amid II); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$ [ppm] 8.31 (d, 1 H, NH-Thr); 8.24 (d, 1 H, $C_6$H-Pic(3OH)); 7.74 - 7.28 (m, 7 H, $C_5$H- und $C_4$H-Pic(3OH) + Penyl); 5.25 (s, 2 H, Bzl-$CH_2$); 5.06 (b, 1 H, OH-Thr); 4.37 (d x d, 1 H, $C_\alpha$H-Thr); 4.18 (m, 1 H, $C_\beta$H-Thr); 1.41 (s, 9 H, t.-Butylgruppe); 1.11 (d, 3 H, $C_\gamma H_3$-Thr)

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{21}H_{26}N_2O_4$ | ber. | C 68.09 | H 7.07 | N 7.56 |
| 370.45 | gef. | 68.32 | 7.28 | 7.41 |

Pic(3OBzl)-Thr[Fmoc-Phg-]-$OBu^t$ 23

5.04 g (13.5 mmol) Fmoc-Phg-OH und 3.48 g (9 mmol) Pic(3OBzl)-Thr-$OBu^t$ werden nach Arbeitsvorschrift IV durch PPA / DMAP miteinander verestert. Das rohe Substanzgemisch wird über Sephadex LH 20 mit MeOH als Laufmittel säulenchromatographisch getrennt.

Ausbeute: 5.41 g amorphes Pulver (81 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +37.0^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.65; B 0.59; C 0.61

IR (KBr): 3370 $cm^{-1}$ (NH-Valenz); 1725 $cm^{-1}$ (CO-Ester); 1675 $cm^{-1}$ (CO-Urethan und Amid I); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$ [ppm] 8.68 (d, 1 H, NH-Thr); 8.43 (d, 1 H, NH-Phg); 8.21 (d, 1 H, $C_6$H-Pic(3OH)); 7.89 - 7.24 (m, 20 H, 2 x Phenyl + $C_5$H- und $C_4$H-Pic(3OH) + 8 Aromatenprotonen Fmoc); 5.45 - 5.35 (m, 2 H, $C_\alpha$H-Phg + $C_\beta$H-Thr); 5.26 - 5.11 (5 x s, 2 H, Bzl-$CH_2$); 4.78 (d x d, 1 H, $C_\alpha$H-Thr); 4.32 - 4.17 (m, 3 H, CH-$CH_2$-Fmoc); 1.31 (s, 9 H, t.-Butylgruppe); 1.00 (d, 3 H, $C_\gamma H_3$-Thr)

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{44}H_{43}N_3O_8$ | ber. | C 71.24 | H 5.84 | N 5.66 |
| 741.85 | gef. | 71.51 | 5.88 | 5.65 |

Pic(3OBzl)-Thr[Fmoc-Phg-]-OH·HCl 24

2.23 g (3 mmol) Pic(3OBzl)-Thr[Fmoc-Phg-]-$OBu^t$ werden in 4 ml Dioxan gelöst, mit 18.5 ml 6.5 N HCl in Dioxan (120 mmol) versetzt und 4 Stunden bei RT gerührt. Nach Abzug des Lösungsmittels wird der verbliebene Schaum in 50 ml warmem $Et_2O$ digeriert und abfiltriert.

Ausbeute: 1.75 g amorphes Pulver (80.8 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +32.7^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.42; B 0.41; C 0.19

IR (KBr): 3500 $cm^{-1}$ (b, OH-Valenz); 3370 $cm^{-1}$ (NH-Valenz); 1740 $cm^{-1}$ - 1715 $cm^{-1}$ (CO-Ester, Säure und Urethan); 1680 $cm^{-1}$ (Amid I); 1510 $cm^{-1}$ (Amid II)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$ [ppm] 8.76 (d, 1 H, NH-Thr); 8.41 (d, 1 H, NH-Phg); 8.27 (d, 1 H, $C_6$H-Pic(3OH)); 7.92 - 7.2 (m, 21 H, 2 x Phenyl + $C_5$H- und $C_4$H-Pic(3OH) + 8 Aromatenprotonen Fmoc + $NH^+$-Pyridin); 5.47 - 5.13 (m, 4 H, $C_\alpha$H-Phg + $C_\beta$H-Thr + Bzl-$CH_2$); 4.84 (d x d, 1 H, $C_\alpha$H-Thr); 4.32 - 4.13 (m, 3 H, CH-$CH_2$-Fmoc); 1.00 (d, 3 H, $C_\gamma H_3$-Thr)

Z-Thr-D-Abu-Pro-$OBu^t$ 25

2.53 g (10 mmol) Z-Thr-OH und 4.29 g (10 mmol) H-D-Abu-Pro-$OBu^t$·TsOH werden nach Arbeitsvorschrift II mit EDCI / HOBt gekuppelt. Der verbliebene Rückstand wird an der Oelpumpe zum Schaum getrocknet.

Ausbeute: 4.66 g hygroskopischer Schaum (94.8 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{25^0C} = -33.9^0$ (c = 1 in MeOH)

Lit [17]: $[\alpha]_D^{25^0C} = -33.9^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.81; B 0.67; C 0.77

IR (NaCl): 3300 $cm^{-1}$ (b, NH- und OH-Valenz); 1730 $cm^{-1}$ (b, CO-Ester und Urethan); 1630 $cm^{-1}$ (Amid I); 1510 $cm^{-1}$ (Amid II); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$[ppm] 8.23 (d, 0.3 H, NH-Abu); 7.97 (d, 0.7 H, NH-Abu); 7.39 - 7.26 (m, 5 H, Phenyl); 6.90 (d, 1 H, NH-Thr); 5.06 und 5.04 (2 x s, 2 H, Bzl-$CH_2$); 4.81 - 4.72 (m, 1.1 H, $C_\alpha$H-Pro + OH-Thr); 4.59 - 4.48 (m, 0.6 H, $C_\alpha$H-Abu); 4.16 - 3.85 (m, 3.3 H, $C_\alpha$H-Abu + $C_\alpha$H-Pro + $C_\alpha$H-Thr + $C_\beta$H-Thr); 3.74 - 3.30 (m, 2 H, $C_\delta H_2$-Pro); 2.25 - 1.30 (m, 6 H, $C_\gamma H_2$- und $C_\beta H_2$-Pro + $C_\beta H_2$-Abu); 1.43 und 1.35 (2 x s, 9 H, t.-Butylgruppe); 1.05 (2 x d, 3 H, $C_\gamma H_3$-Thr); 0.82 (2 x t, 3 H, $C_\gamma H_3$-Abu)

H-Thr-D-Abu-Pro-OBu$^t$·TsOH 26

4.92 g (9 mmol) Z-Thr-D-Abu-Pro-OBu$^t$ und 1.71 g (9 mmol) TsOH·$H_2O$ werden in 100 ml MeOH gelöst, mit 0.3 g Pd/C-Katalysator (5 %ig) versetzt und 15 Stunden bei RT und Atmosphärendruck hydriert. Nach Abfiltration des Katalysators und Abzug des Lösungsmittels wird der Rückstand aus MeOH/$Et_2O$ auskristallisiert.

Ausbeute: 4.54 g (95.1 %) Smp. 84 °C

Drehwert: $[\alpha]_D^{20\,°C} = -14.1°$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.52; B 0.47; C 0.10

IR (KBr): 3400 und 3260 $cm^{-1}$ (b, OH- und NH-Valenz); 1730 $cm^{-1}$ (CO-Ester); 1675 und 1630 $cm^{-1}$ (Amid I); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$[ppm] 8.89 (d, 0.4 H, NH-Abu); 8.68 (d, 0.6 H, NH-Abu); 8.10 (b, 3 H, $NH_3^+$-Thr); 7.49 und 7.12 (2 x d, 4 H, Aromatenprotonen der TsOH); 5.55 (b, 1 H, $C_\alpha$H-Thr); 4.80 (d x d, 0.3 H, $C_\alpha$H-Pro); 4.66 (m, 0.6 H, $C_\alpha$H-Abu); 4.22 - 3.81 (m,

2 H, $C_\alpha H$-Pro + $C_\beta H$-Thr + $C_\alpha H$-Abu); 3.77 - 3.25 (m, 2 H, $C_\delta H_2$-Pro); 2.29 (s, 3 H, $CH_3$-TsOH); 2.3 - 1.4 (m, 6 H, $C_\gamma H_2$- und $C_\beta H_2$-Pro + $C_\beta H_2$-Abu); 1.44 und 1.39 (2 x s, 9 H, t.-Butylgruppe); 1.15 (2 x d, 3 H, $C_\gamma H_3$-Thr); 0.84 (2 x t, 3 H, $C_\gamma H_3$-Abu)

Pic(3OBzl)-Thr[Ddz-Phg-]-D-Abu-Pro-$OBu^t$ 27

1.66 g (3 mmol) Ddz-Phg-OH x DCHA und 1.14 g (2 mmol) Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-$OBu^t$ werden nach Arbeitsvorschrift IV durch PPA / DMAP miteinander verestert. Das rohe Substanzgemisch wird über Sephadex LH 20 mit DMF als Laufmittel aufgetrennt.

Ausbeute: 1.61 g Schaum (87.1 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C}$ = +23.9$^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.77; B 0.51; C 0.58

IR (KBr): 3380 und 3310 $cm^{-1}$ (b, NH-Valenz); 1730 $cm^{-1}$ (CO-Ester und Urethan); 1660 $cm^{-1}$ (Amid I); 1500 $cm^{-1}$ (Amid II); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$[ppm] 8.69 - 8.07 (m, 4 H, NH-Thr + NH-Phg + NH-Abu + $C_6H$-Pic(3OH)); 7.76 - 7.1 (m, 12 H, 2 x Phenyl + $C_5H$- und $C_4H$-Pic(3OH)); 6.59 - 6.18 (m, 3 H, Aromatenprotonen-Ddz); 5.35 - 5.08 (m, 4 H, $C_\alpha H$-Phg + $C_\beta H$-Thr + Bzl-$CH_2$); 5.01 - 3.87 (m, 3 H, $C_\alpha H$-Pro-+ $C_\alpha H$-Thr + $C_\alpha H$-Abu); 3.81 - 3.30 (m, 8 H, $C_\delta H_2$-Pro + 2 x OMe Ddz); 2.34 - 1.20 (m, 21 H, $C_\gamma H_2$- und $C_\beta H_2$-Pro + 2 x $CH_3$-Ddz + $C_\beta H_2$-Abu + t.-Butylgruppe); 1.03 - 0.92 (m, 3 H, $C_\gamma H_3$-Thr); 0.66 - 0.47 (m, 3 H, $C_\gamma H_3$-Abu)

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{50}H_{61}N_5O_{12}$ | ber. | C 64.99 | H 6.65 | N 7.58 |
| 924.07 | gef. | 64.72 | 6.51 | 7.36 |

Pic(3OBzl)-Thr[H-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$·TFA 28

1.39 g (1.5 mmol) Pic(3OBzl)-Thr[Ddz-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$ werden in 15 ml $CH_2Cl_2$ gelöst und tropfenweise mit einer Lösung von 1.16 ml (15 mmol) TFA in 7 ml $CH_2Cl_2$ versetzt. Die sofort tiefrote Lösung wird eine Stunde bei RT gerührt, auf +4°C abgekühlt und tropfenweise mit 1.34 ml (16.5 mmol) Pyridin versetzt. Nach Abzug des Lösungsmittels wird der Rückstand in 150 ml Essigester aufgenommen, mit 3 x 40 ml $H_2O$ und 1 x 40 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen und über $Na_2SO_4$ getrocknet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand an der Oelpumpe zum Schaum getrocknet.

Ausbeute: 1.60 g roter Schaum (quant.)

DSC: $R_f$ C 0.04 + 0.79

Das erhaltene Material wird ohne weitere Reinigung zur Peptidkupplung eingesetzt.

Pic(3OBzl)-Thr[H-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$ 29

2.77 g (3 mmol) Pic(3OBzl)-Thr[Fmoc-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$ werden in 30 ml $Et_2NH$ / $CH_2Cl_2$ (10 %ig; 3 ml = 30 mmol) gelöst und 3 Stunden bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand an der Oelpumpe getrocknet.

Ausbeute: 2.70 g Schaum (quant.)

DSC: $R_f$ A 0.64 + 0.92; B 0.30 + 0.65; C 0.08 + 0.95

Das erhaltene Material wird, ohne Abtrennung des entstandenen Dibenzofulvens, direkt zur weiteren Peptidkupplung eingesetzt.

Boc-MePhe-ONSu 30

5.58 g (20 mmol) Boc-MePhe-OH und 2.37 g (20 mmol) N-Hydroxysuccinimid werden in 30 ml Glyme gelöst und bei -15°C tropfen-

weise mit einer Lösung von 4.13 g (20 mmol) DCC in 10 ml Glyme versetzt. Nach dem Auftauen auf RT (ca. 4 Stunden) wird die Reaktionslösung noch 12 Stunden bei RT gerührt und anschließend für 3 Stunden im Kühlschrank aufbewahrt. Der auskristallisierte Dicyclohexylharnstoff wird abfiltriert, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen und der oelige Rückstand aus Isopropanol auskristallisiert.

Ausbeute: 5.93 g (78.7 %) Smp. 89°C

Drehwert: $[\alpha]_D^{20°C} = -74.0°$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.88; B 0.72; C 0.80

IR (KBr): 1810, 1780, 1735 und 1695 $cm^{-1}$ (CO); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$[ppm] 7.33 -7.21 (m, 5 H, Phenyl); 5.39 - 5.33 und 5.19 - 5.13 (2 x m, 1 H, $C_\alpha H$); 3.34 - 3.10 (m, 2 H, $C_\beta H_2$); 2.83 (b, 4 H, $CH_2$-Gruppen-NSu); 2.71 und 2.68 (2 x s, 3 H, NMe); 1.29 (s, 9 H, t.-Butylgruppe)

| $C_{19}H_{24}N_2O_6$ | ber. | C 60.63 | H 6.43 | N 7.44 |
|---|---|---|---|---|
| 376.41 | gef. | 60.22 | 6.11 | 7.09 |

Boc-MePhe-4-Kps-OMe 31

a) durch Peptidkupplung mit EDCI / HOBt

559 mg (2 mmol) Boc-MePhe-OH und 476 mg (2 mmol) H-4-Kps-OMe·HBr werden nach Arbeitsvorschrift II mit EDCI / HOBt kondensiert. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit DMF als Laufmittel gereinigt und anschließend aus $Et_2O$ / PE auskristallisiert.

Ausbeute: 164 mg (19.6 %) Smp. 119 - 122°C

Drehwert: $[\alpha]_D^{20°C} = -107.3°$ (c = 1 in MeOH)

b) durch Peptidkupplung mit PPA / DMAP

5.59 g (20 mmol) Boc-MePhe-OH und 4.76 g (20 mmol) H-4-Kps-OMe· HBr werden nach Arbeitsvorschrift I mit PPA / DMAP gekuppelt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit DMF als Laufmittel gereinigt und aus $Et_2O$ / PE auskristallisiert.

Ausbeute: 2.55 g (30.5 %) Smp. 125 - 130°C

Drehwert: $[\alpha]_D^{20°C} = -115.2^0$ (c = 1 in MeOH)

c) durch Peptidkupplung mit EDCI / DMAP

2.80 g (10 mmol) Boc-MePhe-OH und 2.38 g (10 mmol) H-4-Kps-OH· HBr werden nach Arbeitsvorschrift II mit EDCI / DMAP kondensiert. Das erhaltene halbkristalline Rohprodukt wird aus $Et_2O$ / PE umkristallisiert.

Ausbeute: 3.15 g (75.3 %) Smp. 136°C

Drehwert: $[\alpha]_D^{20°C} = -125.3^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.80; B 0.72; C 0.80

IR (KBr): 1750 und 1745 $cm^{-1}$ (CO-Ester und Keton); 1675 $cm^{-1}$ (CO-Urethan); 1650 $cm^{-1}$ (Amid I); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1H$-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$) [70]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{22}H_{30}N_2O_6$ | ber. | C 63.14 | H 7.23 | N 6.69 |
| 418.49 | gef. | 62.97 | 7.43 | 6.93 |

Boc-MePhe-4-Kps-OH [32]

2.09 g (5 mmol) Boc-MePhe-4-Kps-OMe werden in 100 ml abs. EtOH suspendiert und tropfenweise mit 11 ml 1 N NaOH versetzt (unter schwacher Gelbfärbung erfolgt sofortige Auflösung). Nach 4 Stunden Reaktionszeit bei RT wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand in 300 ml Eiswasser aufgenommen. Die wässrige Lösung wird mit 6 ml 2 N HCl auf pH 2 - 3

angesäuert, unter NaCl-Sättigung mit 6 x 50 ml Essigester extrahiert und die vereinigten org. Phasen über $Na_2SO_4$ getrocknet. Nach Abzug des Lösungsmittels verbleibt ein hellbrauner, stark hygroskopischer Schaum, der an der Oelpumpe intensiv getrocknet wird.

Ausbeute: 2.02 g Schaum (quant.)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = -114.3^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.42; B 0.72; C 0.37

IR (KBr): 3450 $cm^{-1}$ (b, OH-Valenz); 1730 $cm^{-1}$ (b, CO-Säure, Keton und Urethan); 1640 $cm^{-1}$ (Amid I); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): Die Signale des Methylesters fehlen [70].

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{21}H_{28}N_2O_6$ | ber. | C 62.37 | H 6.98 | N 6.93 |
| 404.47 | gef. | 62.13 | 6.86 | 6.74 |

Pic(3OBzl)-Thr[Boc-MePhe-4-Kps-Phg-]-D-Abu-Pro-$OBu^t$ 33

809 mg (2 mmol) Boc-MePhe-4-Kps-OH und 2 mmol Pic(3OBzl-Thr[H-Phg-]-D-Abu-Pro-$OBu^t$ werden nach Arbeitsvorschrift II mit EDCI / DMAP gekuppelt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit DMF als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 1.40 g gelblich amorphes Pulver (64.3 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = -26.1^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.84; B 0.65; C 0.07

IR (KBr): 3380 $cm^{-1}$ (b, NH-Valenz); 1730 $cm^{-1}$ (b, CO-Ester, Keton und Urethan); 1650 $cm^{-1}$ (Amid I); 1500 $cm^{-1}$ (Amid II); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$) [70]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{59}H_{73}N_7O_{13}$ | ber. | C 65.12 | H 6.76 | N 9.01 |
| 1088.28 | gef. | 65.08 | 6.62 | 9.06 |

Pic(3OBzl)-Thr[H-MePhe-4-Kps-Phg-]-D-Abu-Pro-OH·2xHCl 34

653 mg (0.6 mmol) Pic(3OBzl)-Thr[Boc-MePhe-4-Kps-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$ werden in 2 ml $CH_2Cl_2$ gelöst, mit 4 ml 6 N HCl in Dioxan versetzt (sofort tiefe Rotfärbung) und 4 Stunden bei RT gerührt. Nach Abzug des Lösungsmittels wird das verbliebene amorphe Pulver an der Oelpumpe intensiv getrocknet.

Ausbeute: 605 mg amorph, rosa Pulver (quant.)

DSC: $R_f$ A 0.05; B 0.16; C 0.02

sowie drei schwache Verunreinigungen (Laufmittel B: $R_f$ 0.24, 0.41 und 0.50)

IR (KBr): 3430 und 3370 $cm^{-1}$ (b, OH - und NH-Valenz); 1730 $cm^{-1}$ (b, CO-Ester, Keton und Säure); 1640 $cm^{-1}$ (b, Amid I); 1505 $cm^{-1}$ (b, Amid II)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): Die Signale der t.-Butylgruppen sind verschwunden [70].

Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-MePhe-4-Kps-Phg 35

502 mg (0.5 mmol) Pic(3OBzl)-Thr[H-MePhe-4-Kps-Phg-]-D-Abu-Pro-OH·2xHCl werden nach Arbeitsvorschrift V mit EDCI / DMAP cyclisiert. Das rohe Cyclisierungsprodukt (290 mg) wird säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit DMF als Laufmittel vorgereinigt (113 mg) und anschließend durch HPLC mit Acetonitril / Wasser (9 : 1) als Laufmittel gereinigt (Bedingungen: 20 µl pro Injektion, 1 ml/min; Hauptfraktion: $R_f$ = 6.8, Nebenfraktionen: $R_f$ = 5.8 und 7.8)

Ausbeute: 69 mg amorphes Pulver (15.1 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = -19.5^0$ (c = 0.5 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.67; B 0.47; C 0.47

IR (KBr): 3410 und 3280 $cm^{-1}$ (NH-Valenz); 1730 $cm^{-1}$ (CO-Ester und

Keton); 1680 und 1640 $cm^{-1}$ (Amid I); 1510 $cm^{-1}$ (b, Amid II)

$^1$H-NMR (270 MHz; $CDCl_3$): Siehe Abbildung 11. Die Substanz enthält laut NMR-Spektrum noch ca. 20 % des anderen Epimeren (D-Phg durch Racemisierung während der Veresterung).

FAB-MS: $[M + H]^+ = 914$

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{50}H_{55}N_7O_{10}\cdot H_2O$ | ber. | C 64.43 | H 6.16 | N 10.52 |
| 914.04 + 18 | gef. | 64.76 | 5.92 | 10.66 |

Ketalisierungsversuch von Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-MePhe-4-Kps-Phg

27.4 mg (0.03 mmol) Verbindung 35 werden in 0.5 ml abs. MeOH gelöst, mit 0.29 ml (3 mmol) 2-Methoxy-1,3-dioxolan [63] und 0.5 mg p-Toluolsulfonsäure versetzt und für 5 Tage bei +40°C gerührt. Nach Zugabe von einem Tropfen Pyridin wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand zwischen 100 ml Essigester und 10 ml ges. $NaHCO_3$-Lösung verteilt. Die org. Phase wird mit 1 x 10 ml ges. $NaHCO_3$-Lösung, 2 x 10 ml Wasser und 1 x 10 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen und über $Na_2SO_4$ getrocknet. Nach Abzug des Lösungsmittels verbleibt ein hellbraunes Pulver, daß an der Oelpumpe intensiv getrocknet wird.

Ausbeute: 23 mg amorphes Pulver

$^1$H-NMR (270 MHz; $CDCl_3$): Das NMR-Spektrum zeigt eine weitgehende Zerstörung des eingesetzten Materials an, jedoch keine Ketalisierung.

Katalytische Hydrierung von
Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-MePhe-4-Kps-Phg

23.6 mg (0.025 mmol) Verbindung 35 und 16 mg (0.25 mmol) Ammoniumformiat werden in 0.5 ml MeOH gelöst, mit 15 mg Pd/C-Katalysator (10 %ig) versetzt und bei RT gerührt. Nach 10, 30, 60, 120

und 360 Minuten werden jeweils Proben entnommen und dünnschichtchromatographisch untersucht. Nach 6 Stunden ist die Umsetzung beendet.

DSC: $R_f$ C 0.47 Edukt

0.32 Produkt (Fluoreszenz bei 254 nm)

0.67 natürliches Virginiamycin $S_1$ (Fluoreszenz bei 254 nm)

Keine der entnommenen Proben enthielt Virginiamycin $S_1$.

Fmoc-Thr-OH 36

Die Darstellung (50 mmol Ansatz) erfolgt analog Verbindung 16 bzw. Lit. [29]. Der erhaltene gelbe Schaum (14.15 g = 82.9 %) ist zur Weiterverwendung, trotz einiger Verunreinigungen (DSC: Laufmittel C), geeignet. Zum Einsatz von analysenreinem Fmoc-Thr-OH wird das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit MeOH als Laufmittel zusätzlich gereinigt.

Ausbeute: 12.77 g hygroskopischer Schaum (74.8 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = -5.4^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.49; B 0.73; C 0.28

IR (NaCl): 3400 $cm^{-1}$ (b, OH- und NH-Valenz); 1700 $cm^{-1}$ (b, CO-Säure und Urethan)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$ [ppm] 7.91 - 7.30 (m, 8 H, Aromatenprotonen Fmoc); 7.12 (d, 1 H, NH); 4.34 - 4.22 (m, 3 H, CH-$CH_2$-Fmoc); 4.14 - 4.01 (m, 1 H, $C_\beta H$); 3.98 (d x d, 1 H, $C_\alpha H$); 1.12 (d, 3 H, $C_\gamma H_3$)

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{19}H_{19}NO_5$ | ber. | C 66.85 | H 5.61 | N 4.10 |
| 341.37 | gef. | 66.55 | 5.43 | 4.34 |

Fmoc-Thr-D-Abu-Pro-OBu$^t$ 37

6.83 g (20 mmol) Fmoc-Thr-OH und 8.57 g (20 mmol) H-D-Abu-Pro-OBu$^t$.TsOH werden nach Arbeitsvorschrift II mit EDCI / HOBt gekuppelt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit MeOH als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 9.94 g Schaum (85.7 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = -39.5^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.84; B 0.72; C 0.59

IR (KBr): 3350 $cm^{-1}$ (b, OH- und NH-Valenz); 1720 $cm^{-1}$ (b, CO-Ester und Urethan); 1630 $cm^{-1}$ (Amid I); 1510 $cm^{-1}$ (Amid II); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$) $\delta$ [ppm] 8.23 und 7.98 (2 x d, 1 H, NH-Abu); 7.9 - 7.27 (m, 8 H, Aromatenprotonen Fmoc); 7.05 (2 x d, 1 H, NH-Thr); 4.78 (m, 1.4 H, $C_\alpha$H-Pro + OH-Thr); 4.55 (m, 0.6 H, $C_\alpha$H-Pro); 4.32 - 4.18 (m, 3 H, CH-$CH_2$-Fmoc); 4.15 - 3.85 (m, 3 H, $C_\alpha$H-Abu + $C_\alpha$H- und $C_\beta$H-Thr); 3.74 - 3.30 (m, 2 H, $C_\delta H_2$-Pro); 2.20 - 1.25 (m, 6 H, $C_\beta H_2$- und $C_\gamma H_2$-Pro + $C_\beta H_2$-Abu); 1.43 und 1.33 (2 x s, 9 H, t.-Butylgruppe); 1.05 (2 x d, 3 H, $C_\gamma H_3$-Thr); 0.82 (2 x t, 3 H, $C_\gamma H_3$-Abu)

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{32}H_{41}N_3O_7$ | ber. | C 66.30 | H 7.13 | N 7.25 |
| 579.69 | gef. | 66.40 | 7.01 | 7.29 |

Fmoc-Thr-[Ddz-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$ 38

8.32 g (15 mmol) Ddz-Phg-OH·DCHA und 5.83 g (10 mmol) Fmoc-Thr-D-Abu-Pro-OBu$^t$ werden nach Arbeitsvorschrift IV durch PPA / DMAP miteinander verestert. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit MeOH als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 9.10 g Schaum (97.3 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +4.5^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.93; B 0.75; C 0.84

IR (KBr): 3400 und 3300 $cm^{-1}$ (b, NH-Valenz); 1725 $cm^{-1}$ (CO-Ester und Urethan); 1635 $cm^{-1}$ (Amid I); 1505 $cm^{-1}$ (Amid II); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$ [ppm] 8.54 - 8.11 (m, 2 H, NH-Abu + NH-Phg); 7.95 - 7.22 (m, 14 H, 8 Aromatenprotonen Fmoc + Phenyl + NH-Thr); 6.55 - 6.19 (m, 3 H, Aromatenprotonen-Ddz); 5.33 - 5.08 (m, 2 H, $C_\alpha H$-Phg + $C_\beta H$-Thr); 4.86 - 3.89 (m, 6 H, $C_\alpha H$-Pro + $C_\alpha H$-Abu + CH-$CH_2$-Fmoc + $C_\alpha H$-Thr); 3.79 - 3.32 (m, 8 H, $C_\delta H_2$-Pro + 2x$OCH_3$-Ddz); 2.22 - 0.44 (m, 27 H, $C_\beta H_2$- und $C_\gamma H_2$-Pro + 2x$CH_3$-Ddz + $C_\beta H_2$-Abu + t.-Butylgruppe + $C_\gamma H_3$-Thr + $C_\gamma H_3$-Abu)

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{52}H_{62}N_4O_{12}$ | ber. | C 66.79 | H 6.68 | N 5.99 |
| 935.09 | gef. | 66.52 | 6.44 | 6.16 |

Fmoc-Thr[Z-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$ 39

4.28 g (15 mmol) Z-Phg-OH und 5.83 g (10 mmol) Fmoc-Thr-D-Abu-Pro-OBu$^t$ werden nach Arbeitsvorschrift IV durch PPA / DMAP miteinander verestert. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit MeOH als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 6.25 g amorphes Pulver (73.8 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +6.8^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.92; B 0.86; C 0.78

IR (KBr): 3300 $cm^{-1}$ (b, NH-Valenz); 1720 $cm^{-1}$ (b, CO-Ester); 1680 $cm^{-1}$ (CO-Urethan); 1630 $cm^{-1}$ (Amid I); 1500 $cm^{-1}$ (Amid II); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$ [ppm] 8.51 - 8.26 (m, 2 H, NH-Phg + NH-Abu); 7.94 - 7.19 (m, 19 H, 8 Aromatenprotonen Fmoc + 2 x Phenyl + NH-Thr); 5.36 - 5.14 (m, 2 H, $C_\alpha H$-Phg + $C_\beta H$-Thr); 5.09 - 4.99 (m, 2 H, Bzl-$CH_2$); 4.86 - 3.94 (m, 6 H, $C_\alpha H$-Pro + $C_\alpha H$-Abu

+ CH-$CH_2$-Fmoc + $C_\alpha H$-Thr); 3.80 - 3.28 (m, 2 H, $C_\delta H_2$-Pro); 2.22 - 0.76 (m, 18 H, $C_\beta H_2$- und $C_\gamma H_2$-Pro + $C_\beta H_2$-Abu + t.-Butylgruppe + $C_\gamma H_3$-Thr); 0.71 - 0.46 (m, 3 H, $C_\gamma H_3$-Abu)

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{48}H_{54}N_4O_{10}$ | ber. | C 68.07 | H 6.43 | N 6.61 |
| 846.98 | gef. | 67.84 | 6.38 | 6.64 |

Fmoc-Thr[H-Phg-]-D-Abu-Pro-$OBu^t$·TFA 40

3.74 g (4 mmol) Fmoc-Thr[Ddz-Phg-]-D-Abu-Pro-$OBu^t$ werden analog Verbindung 28 mit 40 mmol 5 %iger Trifluoressigsäure in $CH_2Cl_2$ behandelt. Der erhaltene gelbe Schaum wird aus $Et_2O$ / PE amorph ausgefällt.

Ausbeute: 3.16 g amorphes Pulver (95.5 %)

DSC: $R_f$ A 0.78; B 0.65; C 0.07

sowie drei schwache Verunreinigungen (Laufmittel C: $R_f$ = 0.24, 0.29 und 0.62).

IR (KBr): 3400 und 3280 $cm^{-1}$ (b, NH-Valenz); 1725 $cm^{-1}$ (b, CO-Ester); 1670 $cm^{-1}$ (CO-Urethan); 1625 $cm^{-1}$ (Amid I); 1515 $cm^{-1}$ (Amid II); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): Die Signale der Ddz-Schutzgruppe sind verschwunden.

Fmoc-Thr[H-Phg-]-D-Abu-Pro-$OBu^t$·AcOH 41

3.39 g (4 mmol) Fmoc-Thr[Z-Phg-]-D-Abu-Pro-$OBu^t$ und 400 mg Pd/C-Katalysator (10 %ig) werden in 20 ml 10 %iger AcOH in abs. MeOH gelöst bzw. suspendiert, mit 1.26 g (20 mmol) Ammoniumformiat versetzt und eine Stunde bei RT gerührt. Nach Abfiltration des Katalysators und Abzug des Lösungsmittels wird der Rückstand zwischen 200 ml Essigester und 25 ml ges. NaCl-Lösung verteilt. Die org. Phase wird mit 3 x 20 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen und

über $Na_2SO_4$ getrocknet. Nach Abzug des Lösungsmittels und Trocknung an der Oelpumpe verbleiben 3.16 g farbloser Schaum, der in Petrolether zum amorphen Pulver verrieben, abfiltriert und getrocknet wird.

Ausbeute: 2.64 g amorphes Pulver (85.4 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = -5.1^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.85; B 0.61; C 0.38

IR (KBr): 3360 und 3260 $cm^{-1}$ (b, NH-Valenz); 1725 $cm^{-1}$ (b, CO-Ester); 1670 $cm^{-1}$ (CO-Urethan); 1625 $cm^{-1}$ (Amid I); 1515 $cm^{-1}$ (Amid II); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1H$-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$ [ppm] 8.59 und 8.41 (2 x d, 1 H, NH-Abu); 7.96 - 7.26 (m, 17 H, 8 Aromatenprotonen Fmoc + NH-Thr + $NH_3^+$-Phg + Phenyl); 5.37 - 5.09 (m, 2 H, $C_\alpha H$-Phg + $C_\beta H$-Thr); 4.87 - 3.86 (m, 6 H, $C_\alpha H$-Pro + $C_\alpha H$-Abu + CH-$CH_2$-Fmoc + $C_\alpha H$-Thr); 3.82 - 3.28 (m, 2 H, $C_\delta H_2$-Pro); 2.25 - 0.42 (m, 24 H, $C_\beta H_2$- und $C_\gamma H_2$-Pro + $CH_3$-AcOH + $C_\beta H_2$-Abu + t.-Butylgruppe + $C_\gamma H_3$-Thr + $C_\gamma H_3$-Abu)

Fmoc-Thr[Boc-MePhe-4-Kps-Phg-]-D-Abu-Pro-$OBu^t$ 42

809 mg (2 mmol) Boc-MePhe-4-Kps-OH und 1.65 g (2 mmol) Fmoc-Thr [H-Phg-]-D-Abu-Pro-$OBu^t$·TFA werden nach Arbeitsvorschrift II mit EDCI / DMAP kondensiert. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit MeOH als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 1.48 g amorphes Pulver (67.3 %)

Bei Verwendung von Fmoc-Thr[H-Phg-]-D-Abu-Pro-$OBu^t$·AcOH, nach vorheriger Abtrennung der Essigsäure, als Tetrapeptidkomponente

Ausbeute: 1.12 g amorphes Pulver (51 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = -30.5^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.91; B 0.83; C 0.66

IR (KBr): 3410 und 3310 $cm^{-1}$ (b, NH-Valenz); 1725 $cm^{-1}$ (b, CO-Ester und Keton); 1680 $cm^{-1}$ (b, CO-Urethan); 1640 $cm^{-1}$ (Amid I); 1510 $cm^{-1}$ (Amid II); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): [70]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{61}H_{74}N_6O_{13}$ | ber. | C 66.65 | H 6.78 | N 7.64 |
| 1099.30 | gef. | 65.66 | 6.84 | 7.47 |

Fmoc-Thr[H-MePhe-4-Kps-Phg-]-D-Abu-Pro-OH·HCl **43**

2.2 g (2 mmol) Fmoc-Thr[Boc-MePhe-4-Kps-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$ werden in 8 ml $CH_2Cl_2$ gelöst und bei +4 °C mit 11.4 ml 7 N HCl in Dioxan versetzt. Nach 4 Stunden Reaktionszeit bei +4 °C wird das Lösungsmittel abgezogen. Der Rückstand wird mehrmals in $Et_2O$ suspendiert, erneut eingedampft und das verbliebene amorphe Pulver schließlich über KOH getrocknet.

Ausbeute: 1.97 g gelblich, amorphes Pulver (quant.)

DSC: $R_f$ A 0.26 + 0.16; B 0.43 + 0.24; C 0.06

IR (KBr): 3380 $cm^{-1}$ (b, OH- und NH-Valenz); 1725 $cm^{-1}$ (CO-Ester, Keton und Säure); 1675 $cm^{-1}$ (CO-Urethan); 1635 $cm^{-1}$ (Amid I); 1520 $cm^{-1}$ (Amid II)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): Die Signale der t.-Butylgruppen sind verschwunden [70].

Fmoc-Thr-D-Abu-Pro-MePhe-4-Kps-Phg **44**

980 mg (1 mmol) Fmoc-Thr[H-MePhe-4-Kps-Phg-]-D-Abu-Pro-OH·HCl werden nach Arbeitsvorschrift V mit EDCI / DMAP cyclisiert. Das rohe Cyclisierungsprodukt (450 mg) wird säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit MeOH als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 73 mg gelb, amorphes Pulver (7.9 %)

DSC: $R_f$ A 0.79 + 0.88; B 0.68 + 0.81; C 0.37 + 0.42

IR (KBr): 3440, 3400 und 3280 $cm^{-1}$ (NH-Valenz); 1725 $cm^{-1}$ (CO-Ester und Keton); 1650 $cm^{-1}$ (b, CO-Urethan und Amid I); 1510 $cm^{-1}$ (Amid II)

$^1$H-NMR (270 MHz; $CDCl_3$): Das NMR-Spektrum zeigt noch erhebliche Verunreinigungen an $^{70}$.

FAB-MS: $[M + H]^+ = 925$

Das erhaltene noch verunreinigte Cyclisierungsprodukt wird direkt und ohne weitere Reinigung zu Virginiamycin $S_1$ umgesetzt.

H-Thr-D-Abu-Pro-MePhe-4-Kps-Phg $\underline{\underline{45}}$

23 mg (0.025 mmol) Fmoc-Thr-D-Abu-Pro-MePhe-4-Kps-Phg werden in 1 ml $CH_2Cl_2$ / $Et_2NH$ (10 %ig; 0.1 ml = 1 mmol) gelöst und drei Stunden bei RT gerührt. Nach Abzug des Lösungsmittels wird der Rückstand an der Oelpumpe intensiv getrocknet.

Ausbeute: 22 mg amorphes Pulver (quant.)

DSC: $R_f$ C 0.08 + 0.94

Pic(3OH)-Thr-D-Abu-Pro-MePhe-4-Kps-Phg $\underline{1}$

a) durch Ankondensation von Pic(3OH)-OH mit EDCI / HOBt

4.2 mg (0.03 mmol) Pic(3OH)-OH und 22 mg (0.025 mmol) Verbindung $\underline{\underline{45}}$ werden nach Arbeitsvorschrift II mit EDCI / HOBt gekuppelt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit DMF als Laufmittel vorgereinigt. Das Substanzgemisch (15 mg) enthält lauf NMR-Spektrum ca. 25 % Virginiamycin $S_1$. Zur weiteren Reinigung wird das rohe Virginiamycin $S_1$ säulenchromatographisch durch HPLC mit Acetonitril / Wasser (9 : 1) als Laufmittel gereinigt (Bedingungen: 20 µl pro Injektion, 2 ml / min; $R_f$ = 2.9).

Ausbeute: 4.5 mg Virginiamycin $S_1$ (21.8 %)

Smp.: 162 - 168°C (Lit.:[71]: 162 - 170°C)

DSC: $R_f$ A 0.68; B 0.56; C 0.67 (Fluoreszenz bei 254 nm)
identische $R_f$-Werte mit parallel laufendem natürliche Virginiamycin $S_1$

IR (KBr): 3500 $cm^{-1}$ (OH-Valenz); 3380 und 3280 $cm^{-1}$ (NH-Valenz); 1740 $cm^{-1}$ (CO-Ester); 1730 $cm^{-1}$ (CO-Keton); 1680 und 1640 $cm^{-1}$ (Amid I); 1530 $cm^{-1}$ (Amid II)
identisch mit dem Literaturspektrum [6] von Virginiamycin $S_1$

b) durch Cyclisierung von Pic(3OH)-Thr[H-MePhe-4-Kps-Phg-]-D-Abu-Pro-OH.2xHCl

366 mg (0.4 mmol) Pic(3OH)-Thr[H-MePhe-4-Kps-Phg-]-D-Abu-Pro-OH.2xHCl werden nach Arbeitsvorschrift V mit EDCI / DMAP cyclisiert. Von den 230 mg Rohprodukt verblieben nach säulenchromatographischer Reinigung über Sephadex LH 20 mit DMF als Laufmittel 86 mg amorphes Pulver (26.1 %). Die weitere Reinigung des Cylisierungsproduktes ergibt nach HPLC, wie unter a) beschrieben, und Kristallisation aus MeOH reines Virginiamycin $S_1$.

Ausbeute: 46 mg Virginiamycin $S_1$ (14 %)

Smp.: 162 - 170°C (Lit [71]: 162 - 170°C)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20°C} = -27.6°$ (c = 0.2 in EtOH)
Lit. [72]: $[\alpha]_D^{20°C} = -28°$ (c = 1 in EtOH)

DSC: identisch mit natürlichem Virginiamycin $S_1$

IR (KBr): identisch mit natürlichem Virginiamycin $S_1$

$^1$H-NMR (270 MHz; $CDCl_3$): identisch mit natürlichem Virginiamycin $S_1$ (siehe Abbildungen 12 und 13 auf Seite 44 und 45)

FAB-MS: $[M + H]^+ = 824$

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{43}H_{49}N_7O_{10}\cdot H_2O$ | ber. | C 61.34 | H 6.11 | N 11.65 |
| 823.91 + 18 | gef. | 61.09 | 6.02 | 11.69 |

Pic(3OBzl)-Thr[Z-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$ 46

a) durch Veresterung mit PPA / DMAP

2.14 g (7.5 mmol) Z-Phg-OH und 2.84 g (5 mmol) Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-OBu$^t$ werden nach Arbeitsvorschrift IV durch PPA / DMAP miteinander verestert. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit DMF als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 2.78 g Schaum (66.5 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +24.8^0$ (c = 1 in MeOH)

b) durch Veresterung mit $(Me_2N)_3P$ / $C_2Cl_6$ / DMAP

1.28 g (4.5 mmol) Z-Phg-OH und 1.71 g (3 mmol) Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-OBu$^t$ werden entsprechend Arbeitsvorschrift IV mit 5 mmol des Kondensationsreagenzes aus $(Me_2N)_3P$ und $C_2Cl_6$ (Darstellung siehe Arbeitsvorschrift III) unter Zusatz von 0.99 ml (9 mmol) NMM miteinander verestert.

Ausbeute: 1.21 g Schaum (48.2 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +22.5^0$ (c = 1 in MeOH)

c) durch Veresterung mit EDCI / DMAP

856 mg (3 mmol) Z-Phg-OH und 1.14 g (2 mmol) Pic(3OBzl)-Thr-D-Abu-Pro-OBu$^t$ werden entsprechend Arbeitsvorschrift IV mit 575 mg (3 mmol) EDCI ohne Basenzusatz miteinander verestert. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit DMF als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 690 mg Schaum (41.3 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +22.6^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.78; B 0.64; C 0.59

IR (KBr): 3360 und 3280 $cm^{-1}$ (NH-Valenz): 1730 $cm^{-1}$ (b, CO-Ester und Urethan); 1650 $cm^{-1}$ (Amid I); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): $\delta$ [ppm] 8.70 - 8.28 (m, 3 H, NH-Phg + NH-Abu + NH-Thr); 8.20 (m, 1 H, $C_6$H-Pic(3OH)); 7.73 - 7.27 (m, 17 H, $C_5$H- und $C_4$H-Pic(3OH) + 3 x Phenyl); 5.34 - 5.12 (m, 4 H, $C_\alpha$H-Phg + $C_\beta$H-Thr + Bzl-$CH_2$); 4.93 - 3.99 (m, 3 H, $C_\alpha$H-Pro + $C_\alpha$H-Abu + $C_\alpha$H-Thr); 3.81 - 3.30 (m, 2 H, $C_\delta H_2$-Pro); 2.24 - 1.11 (m, 15 H, $C_\gamma H_2$- und $C_\beta H_2$-Pro + $C_\beta H_2$-Abu + t.-Butylgruppe); 1.00 - 0.92 (m, 3 H, $C_\gamma H_3$-Thr); 0.68 - 0.46 (m, 3 H, $C_\gamma H_3$-Abu)

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{46}H_{53}N_5O_{10}$ | ber. | C 66.09 | H 6.39 | N 8.38 |
| 835.96 | gef. | 65.85 | 6.32 | 8.55 |

Pic(3OH)-Thr[H-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$·TsOH **47**

1.25 g (1.5 mmol) Pic(3OBzl)-Thr[Z-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$ und 285 mg (1.5 mmol) TsOH·$H_2O$ werden in 40 ml MeOH gelöst, mit 100 mg Pd/C-Katalysator (5 %ig) versetzt und 10 Stunden bei Atmosphärendruck und RT hydriert. Nach Abfiltration des Katalysators und Abzug des Lösungsmittels wird der Rückstand an der Oelpumpe zum festen Schaum getrocknet.

Ausbeute: 1.13 g Schaum (96.1 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +4.5^0$ (c = 1 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.74; B 0.45; C 0.09 (Fluoreszenz bei 254 nm)

IR (KBr): 3400 $cm^{-1}$ (b, OH- und NH-Valenz); 1740 $cm^{-1}$ (CO-Ester); 1640 $cm^{-1}$ (Amid I); 1520 $cm^{-1}$ (Amid II); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): Die Signale des Benzylethers und der Z-Schutzgruppe sind verschwunden.

Pic(3OH)-Thr[Boc-MePhe-4-Kps-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$ **48**

405 mg (1 mmol) Boc-MePhe-4-Kps-OH und 784 mg (1 mmol) Pic(3OH)-Thr[H-Phg-]-D-Abu-Pro-OBu$^t$·TsOH werden nach Arbeitsvorschrift II

mit EDCI / DMAP kondensiert. Das erhaltene Rohprodukt (910 mg) wird säulenchromatographisch über Sephadex LH 20 mit DMF als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 520 mg amorphes Pulver (52.1 %)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = -15.2^0$ (c = 0.5 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.92; B 0.77; C 0.74 (Fluoreszenz bei 254 nm)

IR (KBr): 3400 und 3350 $cm^{-1}$ (OH- und NH-Valenz); 1730 $cm^{-1}$ (CO-Ester und Keton); 1680 $cm^{-1}$ (CO-Urethan); 1640 $cm^{-1}$ (Amid I); 1520 $cm^{-1}$ (Amid II); 1365 $cm^{-1}$ (t.-Butylgruppe)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): [70]

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| $C_{52}H_{67}N_7O_{13}$ | ber. | C 62.57 | H 6.77 | N 9.82 |
| 998.15 | gef. | 62.38 | 6.60 | 10.03 |

Pic(3OH)-Thr[H-MePhe-4-Kps-Phg-]-D-Abu-Pro-OH·2xHCl 49

450 mg (0.45 mmol) Pic(3OH)-Thr[Boc-MePhe-4-Kps-Phg-]-D-Abu-Pro-$OBu^t$ werden in 1 ml $CH_2Cl_2$ gelöst, mit 3 ml 5.7 N HCl in Dioxan (17 mmol) versetzt und 3 Stunden bei RT gerührt, wobei sich nach kurzer Zeit bereits ein oeliger Niederschlag bildet. Nach Abzug des Lösungsmittels wird das verbliebene amorphe Pulver intensiv an der Oelpumpe getrocknet.

Ausbeute: 415 mg leicht gelblich, amorphes Pulver (quant.)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20^0C} = +20.2^0$ (c = 0.5 in MeOH)

DSC: $R_f$ A 0.08; B 0.13; C 0.00 (Fluoreszenz bei 254 nm)

IR (KBr): 3400 $cm^{-1}$ (b, OH- und NH-Valenz); 1730 $cm^{-1}$ (CO-Ester und Keton); 1650 $cm^{-1}$ (Amid I); 1520 $cm^{-1}$ (Amid II)

$^1$H-NMR (270 MHz; DMSO-$d_6$): Die Signale der t.-Butylgruppen sind verschwunden [70].

N-Ethyl-N'-(dimethylaminopropyl)carbodiimidhydrochlorid 50
(EDCI) [48] nach einer Methode von Appel [55]

Zu einer Lösung von 100 g (1.15 mol) Ethylisothiocyanat in 400 ml abs. $Et_2O$ wird unter Eiskühlung langsam eine Lösung von 140 ml (1.15 mol) 3-Dimethylaminopropylamin in 200 ml abs. $Et_2O$ zugetropft. Nach beendeter Zugabe wird die Reaktionslösung über Nacht bei RT gerührt und anschließend das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen.

Der oelige Rückstand wird zusammen mit 346 g (1.32 mol) Triphenylphosphin und 160 ml (1.32 mol) $Et_3N$ in 850 ml $CH_2Cl_2$ gelöst und langsam tropfenweise mit 111 ml (1.15 mol) $CCl_4$ versetzt (exothermer Reaktionsverlauf, der die Reaktionslösung für ca. 1 Stunde zum Sieden bringt). Nach beendeter Zugabe wird die Reaktionslösung noch 3 Stunden bei $+40^0C$ gerührt, anschließend auf $+4^0C$ abgekühlt und das ausgefallene Triethylaminhydrochlorid abfiltriert. Nach Abzug des Lösungsmittels wird der Rückstand in 500 ml PE suspendiert und das Carbodiimid von ausgefallenem $Ph_3PS$ abfiltriert. Nach Abzug des Lösungsmittels wird das verbliebene rote Oel destilliert (Druck: 1.5 - 2 Torr; Siedebereich: 61 - $65^0C$; Badtemperatur: max. $120^0C$). Ausbeute: 111.2 g farblose Flüssigkeit (62 %)

Das erhaltene Carbodiimid wird in 500 ml $CH_2Cl_2$ gelöst und unter kräftigem Rühren (KPG-Rührer) und Eiskühlung portionsweise mit 82.9 g (717 mmol) Pyridiniumchlorid versetzt. Nach beendeter Zugabe werden zu der entstandenen Suspension noch 200 ml abs. $Et_2O$ zugegeben und der Kolben zur Vervollständigung der Kristallisation über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt.

Ausbeute: 129.1 g (58.6 %) Smp. 114 - $116^0C$

(Lit. [48]: $114.5^0C$)

IR (KBr): 2120 $cm^{-1}$ (Carbodiimid)

## 8. Literaturverzeichnis


[1] J. Charney, W.P. Fisher, C. Curron, R.A. Machlowitz und A.A. Tytell, Antibiotics & Chemotherapy 3, 1283 (1953)

[2] P. De Somer und P. van Dijck, Antibiotics & Chemotherapy 5, 623 (1955)

[3] D. Vazquez, in Antibiotics I, D. Gottlieb und P. Shaw (Hrsg.), Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1975, 387.

[4] D. Vazquez, in Antibiotics III, J.W. Corcoran und F.E. Hahn (Hrsg.), Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1975, 521.

[5] N. Tanaka, in Antibiotics III, J.W. Corcoran und F.E. Hahn (Hrsg.), Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1975, 487.

[6] C. Cocito, Microbiological Reviews 43, 145 (1979)

[7] E. Schröder und K. Lübke, Experientia 14, 57 (1963)

[8] C. Cocito und M.Di Giambattista, Molec. gen. Genet. 166, 53 (1978)

[9] A. Conteras und D. Vazquez, Eur. J. Biochem. 74, 549 (1977)

[10] H.L. Ennis, Biochem. 10, 1265 (1971)

[11] M.-P. de Bethune und K.H. Nierhaus, Eur. J. Biochem. 86, 187 (1978)

[12] H.L. Ennis, Arc. Biochem. Biophys. 160, 394 (1974)

[13] H. Jamaguchi, N. Tanaka und H. Umezawa, J. Antibiotics, 20, 41 (1967)

[14] E. Grell, I. Oberbäumer, H. Ruf und H.P. Zingsheim, in Biochemistry of Membrane Transport, G. Semenza und E. Carafoli (Hrsg.), Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1977, 147.

[15] I. Oberbäumer, Dissertation, Göttingen, 1979

[16] J.C. Sheehan und S.L. Ledis, J. Amer. Chem. Soc. 95, 875 (1973)

[17] G. Jollès, G. Poiget, J. Robert, B. Terlain und J.-P. Thomas,

Bull. Soc. Chim. France, 2252 (1965)

[18] G. Jollès und J. Bouchaudon, in Peptides, North-Holland Publishing Company, Amsterdam 1967, 258.

[19] M.A. Ondetti und P.L. Thomas, J. Amer. Chem. Soc. 87, 4373 (1965)

[20] M. Bodanszky, M.A. Ondetti und J.T. Sheehan (E.R. Squibb and Sons, Inc.) U.S. 3,373,151 C.A. 69, 59563p (1968)

[21] B. Kutscher, Diplomarbeit, Frankfurt, 1981

[22] H. Kessler, B. Kutscher, E. Grell und G. Mager, Liebigs Ann. Chem. 1541 (1983)

[23] H. Kessler, Angew. Chem. 94, 509 (1982)

[24] J.T. Sheehan, J. Org. Chem. 31, 636 (1966)

[25] C. Birr, W. Lochinger, G. Stahnke und P. Lang, Liebigs Ann, Chem. 763, 162 (1972)

[26] C. Birr, Liebigs Ann. Chem. 1652 (1973)

[27] W. König und K. Kernebeck, Liebigs Ann. Chem. 227 (1979)

[28] L.A. Carpino und G.Y. Han, J. Org. Chem. 37, 3404 (1972)

[29] C.-D. Chang, M. Waki, M. Ahmad, J. Meienhofer, E.O. Lundell und J.D. Haug, Int. J. Peptide Protein Res. 15, 59 (1980)

[30] S.M. Birnbaum, L. Levintow, R.B. Kingsley und J.P. Greenstein, J. Biol. Chem. 194, 455 (1952)

[31] D. Rudman, A. Meister und J.P. Greenstein, J. Amer. Chem. Soc. 74, 551 (1952)

[32] J.P. Greenstein, J.B. Gilbert und P.J. Fodor, J. Biol. Chem. 182, 451 (1950)

[33] V.E. Price, J.B. Gilbert und J.P. Greenstein, J. Biol. Chem. 179, 1169 (1949)

D. Heinert und A.E. Martell, Tetrahedron 3, 54 (1958)

[35] J.W. Clark-Lewis und P.I. Mortimer, J. Chem. Soc. 189 (1961)

[36] Y. Fujita, J. Kollonitsch und B. Witkop, J. Amer. Chem. Soc. 87, 2030 (1965)

[37] A.B. Mauger, in Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides and Proteins Vol. 4, B. Weinstein (Hrsg.), Marcel Dekker Inc., New York und Basel 1977, 216.

[38] H.S. Mosher und M. Look, J. Org. Chem. 20, 283 (1955)

[39] M. Kühn, Diplomarbeit, Frankfurt, 1980

[40] M.M. Shemyakin, Y.A. Ovchinnikov, V.T. Ivanov und A.A. Kiryushkin, Tetrahedron 19, 581 (1963)

[41] O. Hollitzer, A. Seewald und W. Steglich, Angew. Chem. 88, 480 (1976)

[42] G. Schnorrenberg, Diplomarbeit, Bonn, 1978

[43] H. Wissmann und H.-J. Kleiner, Angew. Chem. 92, 129 (1980)

[44] W. Steglich und G. Höfle, Angew. Chem. 81, 1001 (1969)

[45] G. Höfle, W. Steglich und H. Vorbrüggen, Angew. Chem. 90, 602 (1978)

[46] H.A. Staab, Angew. Chem. 71, 194 (1959)

[47] M.K. Dhaon, R.K. Olsen und K. Ramasamy, J. Org. Chem. 47, 1962 (1982)

[48] J.C. Sheehan, P.A. Cruickshank und G.L. Boshart, J. Org. Chem. 26, 2525 (1961)

[49] W. Steglich und B. Neises, Angew. Chem. 90, 556 (1978)

[50] R. Appel und L. Willms, Chem. Ber. 110, 3209 (1977)

[51] R. Appel und L. Willms, Chem. Ber. 112, 1057 (1979)

[52] J. Diago-Meseguer und A.L. Palomo-Coll, Synthesis, 547 (1980)

[53] Y.S. Klausner und M. Bodanszky, Synthesis, 549 (1974)

[54] W. König und R. Geiger, Chem. Ber. 103, 788 (1970)

[55] R. Appel, R. Kleinstück und K.-D. Ziehn, Chem. Ber. 104, 1335 (1971)

[56] G.W. Anderson und F.M. Callahan, J. Amer. Chem. Soc. 82, 3359 (1960)

[57] M. Bodanszky, persönliche Mitteilung

[58] M. Bodanszky und J. Martinez, Synthesis 333 (1981)

[59] F.M. Callahan, G.W. Anderson, R. Paul und J.E. Zimmerman, J. Amer. Chem. Soc. 85, 201 (1963)

[60] J.R. Mc Dermott und N.L. Benoiton, Canad. J. Chem. 51, 2562 (1973)

[61] J.R. Mc Dermott und N.L. Benoiton, in Chemistry and Biology of Peptides, Proc. 3rd American Peptide Symp., Boston 1972, Ann Arbor Science Publ. Inc., Ann Arbor, Michigan 1972, 369.

[62] S.S. Wang, J.P. Tam, B.S.H. Wang und R.B. Merrifield, Int. J. Peptide Protein Res. 18, 459 (1981)

[63] B. Glatz, G. Helmchen, H. Muxfeldt, P. Porcher, R. Prewo, J. Senn, J.J. Stezowski, R.J. Stojda und D.R. White, J. Amer. Chem. Soc. 101, 2171 (1979)

[64] E. Atherton, C. Bury, R.C. Sheppard und B.J. Williams, Tetrahedron Lett. 3041 (1979)

[65] M.K. Anwer und A.F. Spatola, Synthesis 929 (1980)

[66] M.J.O. Anteunis, R.E.A. Callens und D.K. Tavernier, Eur. J. Biochem. 58, 259 (1975)

[67] Prof. Dr. G. Helmchen, Universität Stuttgart; D. Flockerzi, Diplomarbeit, Stuttgart, 1978

[68] Bei der Verwendung von Aminosäure- oder Peptidsalzen erhöht bzw. erniedrigt sich die zugesetzte Menge an NMM entsprechend.

[69] A.B. Burg und J.P. Slota, J. Amer. Chem. Soc. 82, 2145 (1960)

[70] Die Verbindung ist konformativ im $^1$H-NMR-Spektrum nicht einheitlich und daher treten einige Signale mehrfach auf. Diese Erscheinungen sind bei Peptiden mit N-alkylierten Aminosäuren

häufig und werden auf cis/trans-Isomerie an der entsprechenden Peptidbindung zurückgeführt. Eine Zuordnung des Spektrums ist, bedingt durch die starken Überlagerungen und unterschiedlichen Verschiebungen mehrerer Konformationen, nicht mehr möglich.

[71] I. Oberbäumer, E. Grell, F. Raschdorf und W.J. Richter, Helv. Chim. Acta 65, 2280 (1982)

[72] H. Vanderhaeghe und G. Parmentier, J. Amer. Chem. Soc. 82, 4414 (1960)

Lebenslauf

| | |
|---|---|
| 27.12.1954 | Geboren in Frankfurt am Main |
| 1961 bis 1964 | Besuch der Grundschule in Erbach im Odenwald |
| 1965 bis 1973 | Besuch des gymnasialen Zweiges der Ernst-Reuter-Schule in Frankfurt am Main |
| Juni 1973 | Abitur |
| Juli 1973 bis Sept. 1974 | Ableistung des Wehrdienstes bei einer Fernmeldeeinheit der Luftwaffe |
| Oktober 1974 | Beginn des Chemiestudiums an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main |
| 22. Juli 1977 | Diplomchemiker-Vorprüfung |
| Oktober 1979 | Beginn der Diplomarbeit im Arbeitskreis von Professor Dr. H. Kessler |
| August 1980 | Abschluß der Diplomarbeit; Thema: Versuche zur Synthese von Virginiamycin $S_1$ |
| Sept. 1980 bis August 1983 | Arbeiten an der vorliegenden Dissertation bei Prof. Dr. H. Kessler |

Meine akademischen Lehrer waren die Professoren und Dozenten:

W. Bartmann, F. Becker, H. Bock, H. Fasold, H. Fritz, R. Geiger, H. Hartmann, K. Hensen, H. Kelm, H. Kessler, K.H. König, K. Kummer, D. Leibfritz, W. Martienssen, E. Mutschler, L. Papula, G.Quinkert, D. Rehm, W. Ried, H. Roesky, P. Rosenmund, H. Rüterjans, W. Sterzel, W.D. Stohrer

Druck und Verarbeitung: copy shop, darmstadt, tel. 21353